



TITLE:

単胎および双胎妊娠牛の飼養技術に関する研究(Dissertation_全文)

AUTHOR(S):

西田, 武弘

CITATION:

西田, 武弘. 単胎および双胎妊娠牛の飼養技術に関する研究. 京都大学, 1999, 博士(農学)

ISSUE DATE:

1999-09-24

URL:

<https://doi.org/10.11501/3157423>

RIGHT:

単胎および双胎妊娠牛の飼養技術に関する研究

西田 武弘

1999 年

目次

第 1 章 緒言

研究目的	-----	1
従来の研究の概要	-----	2

第 2 章 黒毛和種牛の受精卵を移植したホルスタイン種雌牛の妊娠末期におけるエネルギー要求量

材料と方法	-----	12
結果	-----	15
考察	-----	20

第 3 章 妊娠末期の栄養代謝に及ぼす要因の解明

第 1 節 乳牛の妊娠末期におけるエネルギー水準が血漿代謝産物およびホルモン濃度に及ぼす影響

材料と方法	-----	24
結果	-----	27
考察	-----	33

第 2 節 妊娠末期のヤギ妊娠子宮への養分供給量に及ぼす胎子数，栄養摂取量およびホルモン濃度の影響

材料と方法	-----	40
結果	-----	44
考察	-----	55

第 4 章 妊娠時の飼料摂取量に及ぼす要因の解明

第 1 節 胎子数および妊娠の進行が母牛の妊娠末期における飼料の消化管
通過速度に及ぼす影響

材料と方法	-----	59
結果	-----	61
考察	-----	65

第 2 節 飼料の粗濃比が妊娠末期の乾乳牛の乾物摂取量に及ぼす影響

材料と方法	-----	69
結果	-----	72
考察	-----	72

第 5 章 総合考察

第 1 節 妊娠末期エネルギー要求量の算出（母牛：ホルスタイン種，
胎子：黒毛和種） ----- 78

第 2 節 単胎および双胎妊娠時の飼養管理技術について ----- 81

第 6 章 総括 ----- 88

謝辞 ----- 93

引用文献 ----- 94

Summary ----- 110

第1章 緒言

研究目的

近年、受精卵移植技術の向上にともない、乳用種の雌牛に対して複数の肉用種の受精卵を移植して双胎妊娠あるいは多胎妊娠させ、肉用牛の増殖を効率よく行なおうとする技術が開発されている。また同時に、育種改良技術の発達によって泌乳量が急激に増大しており、それに従って、泌乳初期の栄養不足がますます深刻になってきている。そのため、乳量の低下、発情回帰の遅延、その結果としての分娩間隔の増大や脂肪肝の発生などの障害が多発する傾向にあり、大きな問題となっている。これらの問題に対処するためには、泌乳初期の乾物摂取量の増大を図るとともに、妊娠末期（乾乳期）における飼養方法を改善することが、泌乳初期の乳量および繁殖成績に好影響を及ぼすものと考えられる。双胎妊娠牛では、単胎妊娠牛と比較して、養分要求量や妊娠子宮容積の増大等が予測されるため、よりいっそうの飼養技術改善が求められている。

妊娠末期は、経産牛では、母牛のボディコンディションを調整し、前泌乳次に消耗した消化器官や乳腺を回復させるとともに、胎子を順調に生育させることが必要である。また、最近では初産時の体重および乳量も著しく増大しており（生田ら、1998b）、妊娠末期には、母牛、胎子および乳腺の成長に十分な量の養分を供給するよう注意する必要がある。双胎妊娠牛では、単胎妊娠牛と比べて難産や死産等、分娩時の事故が多く、繁殖障害、廃用の増加および分娩後の乳量低下が観察されている。また、双胎妊娠牛は、単胎妊娠牛と比較して妊娠期間が短く、子牛の生時体重も小さい（Butler and Smith, 1989）。双胎妊娠牛の後産停滞発症率は高いが、これは栄養状態の影響による妊娠期間の短縮、難産および死産との間に関係があるものと考えられている（宮腰ら、1990）。双胎妊娠牛は、単胎妊娠牛と比較してエネルギー要求量が高いため、分娩前の飼料摂取量が単胎牛と同じレベルであると、母体の正味の体重は減少する（Koong

et al., 1982)。これら双胎妊娠にともなう分娩前後における種々の問題点は、栄養不足が原因となっているものが多いと考えられる。しかし、栄養不足にともなう障害の起こりやすい双胎妊娠時においても、分娩前の飼料の増給によって、妊娠期間の延長、分娩時の事故の減少による新生子牛の生存率及び分娩後の繁殖成績の向上がみられている (Gordon *et al.*, 1962)。そのため、胎子の養分代謝および母体との栄養素配分とその制御機構を解明することは、妊娠末期における精密な飼養管理を行うために重要であると思われる。

そこで、本研究では、第2章において単胎および双胎妊娠牛の妊娠末期における養分要求量を算出し、第3章第1節において、低栄養が妊娠牛の内分泌状態および血中代謝産物濃度に及ぼす影響について検討し、第2節においては低栄養および胎子数がヤギ妊娠子宮養分出納に及ぼす影響について検討した。第4章第1節において、妊娠末期における採食量および消化率低下の要因を解明し、第2節において、その対策としての妊娠末期における給与飼料の最適エネルギー濃度について検討した。最後に、単胎および双胎妊娠牛の飼養方法について総合的に考察した。

従来の研究の概要

1. 双胎妊娠の特徴

(1) 双胎妊娠の長所と短所

母牛1頭当たりの生産性を子牛の体重で比較すると、母牛1頭が生産する離乳子牛を、単胎における0.89頭/母牛1頭から双胎の1.68頭/母牛1頭に増加させ (Diskin *et al.*, 1990)、より多くの利益が得られることが報告されている (DeRose and Wilton, 1991)。分娩時の介護を十分に行えば、分娩後100日目の双胎子牛体重は、単胎子牛よりも合計で40%大きくなることも報告されている (Gregory *et al.*, 1990)。Guerra-Martinez ら (1990) は、受精卵移植による双胎妊娠技術活用によって、双胎妊娠にかかる労働および医療費増加幅が40%と仮定しても、なお約24%の経費が節減できるとしている。これらのことか

ら、双子分娩率を高めることによって子牛生産効率の大幅な向上が可能となるものと考えられる。また、双胎子牛で問題となるフリーマーチンの生育成績は、通常のメスと差はみられず、フリーマーチンの方が、各付け成績が有意に高く、品質も高く評価されたことが報告されている (Gregory *et al.*, 1996)。しかし一方では、双胎妊娠牛は、単胎妊娠牛と比べて難産や死産等、分娩時の事故が多く、繁殖障害、廃用の増加および分娩後の乳量低下 (Syrstad, 1977; Nielen *et al.*, 1989; 磯貝ら, 1990) も観察されている。

(2) 妊娠期間

双胎妊娠牛は、単胎妊娠牛と比較して妊娠期間が3～13日程度短く、子牛の生時体重および離乳時の体重も小さい (Candy and VanVleck, 1978; Butler and Smith, 1989; Davis *et al.*, 1989; Diskin *et al.*, 1990; Guerra-Martinez *et al.*, 1990; Ryan and Boland, 1991; Echternkamp, 1992; 大道寺ら, 1993; Suzuki *et al.*, 1998)。単胎子牛の難産発生率は、双胎子牛よりも低いことが報告されている (大道寺ら, 1993; Suzuki *et al.*, 1998)。単胎子牛の分娩介護は、ほとんどが通常胎位の牽引であったが、双胎子牛の分娩介護は、ほとんどが異常胎位の牽引であった (Gregory *et al.*, 1996)。これらは、産道への2胎同時進入、胎子の失位、子宮の過剰伸張による子宮無力症、奇形胎子などが原因となって起こり、発生率は単子に比べて高い (Gordon *et al.*, 1962)。双胎牛の方が単胎牛よりも難産の場合の子牛死亡率が高いことが観察されている (Gregory *et al.*, 1990, 1996)。

(3) 後産停滞

双胎妊娠牛の後産停滞発症率は高いことが多数報告されている (Erb and Morrison, 1959; Diskin *et al.*, 1990; Guerra-Martinez *et al.*, 1990; Suzuki *et al.*, 1998) が、双子分娩後に排出される胎盤は一側の子宮角のみである場合があるので、胎盤が完全に排出されているか否かを確認する必要がある (大道寺ら, 1993)。後産停滞発症率の高さは、栄養状態の影響による妊娠期間の短縮、難産および死産との間に関係があるものと考えられている (宮腰ら, 1990)。本研究で示したように、双胎妊娠牛は、単胎妊娠牛と比較してエネルギー要求量

が高いため、分娩前の飼料摂取量が単胎牛と同じレベルであると、母体の正味の体重は減少する (Koong *et al.*, 1982)。しかし、栄養不足にともなう障害の起こりやすい双胎妊娠時においても、分娩前の飼料の増給によって、妊娠期間の延長、分娩時の事故の減少による新生子牛の生存率及び分娩後の繁殖成績の向上がみられている (Gordon *et al.*, 1962)。

2. 胎子の栄養源

胎子重量の増加は、妊娠初期は小さいが、妊娠末期約 3 カ月間に急激に増大することが知られている (Ferrell *et al.*, 1976a, Prior and Laster, 1979)。胎子の成長やエネルギー代謝に必要な炭水化物や窒素源は主としてグルコースとアミノ酸で供給されており (Bell, 1995)、飽食させたヤギの胎子のグルコースと乳酸塩の代謝を直接測定した結果、これらの栄養源の胎子の代謝に占める割合は、50～60%であったとの報告がある。反芻動物では、短鎖や長鎖の脂肪酸やケトン体は、胎盤をあまり通過できないため、酢酸は、妊娠末期の牛胎子のエネルギー源としては、およそ 10～15%程度だと考えられている。残りの 30～40%のエネルギー源は、アミノ酸であると考えられる。牛 (Reynolds *et al.*, 1986) やヒツジ (Lemons *et al.*, 1976) の胎子のアミノ酸の正味取り込み量から求めた報告では、アミノ酸はエネルギー源として 50%を占めていたと示している。妊娠末期の胎子への脂肪の蓄積量は、非常に低い傾向にあるのは、母体血中の長鎖脂肪酸が胎盤を通過できないためであると考えられる。また、はじめから妊娠末期の胎子の脂肪細胞での脂肪酸合成能力がかなり低いためである (Vernon *et al.*, 1981) とも考えられる。

3. 胎盤と子宮の代謝

子宮および胎盤の組織 (胎盤、子宮内膜、子宮筋層) は、妊娠末期には妊娠子宮全体の重量の 20%程度を占めているに過ぎない。しかし、牛やヒツジでは、それらの組織は子宮に取り込んだ酸素の 35～50%および、グルコースの 65%

を消費していることが確認されている (Reynolds *et al.*, 1986)。子宮に取り込まれたグルコースは、30～40%は乳酸塩に変換されて、母体や胎子の血液中に放出される (Reynolds *et al.*, 1986)。胎子胎盤に取り込まれたグルコースはフルクトースに変換され、胎子の血中に放出される。反芻動物の胎子血中のフルクトース濃度は高く、胎盤で盛んに生成されているが、代謝回転速度は遅く、エネルギー源としてはグルコースの 1/5 である (Meznarich *et al.*, 1987)。牛の胎盤は、妊娠 230 日頃まで成長していることが知られている (Ferrell *et al.*, 1976a)。子宮胎盤でのアミノ酸の代謝は活発に行われていることが報告されているが、この機序については、牛ではまだ解明されていない。ヒツジの胎盤は、妊娠末期には成長しないが、アミノ酸、特にグルタミン、シトルリンが消費されている (Liechty *et al.*, 1991)。妊娠子宮では、少量であるが、酢酸と 3-ヒドロキシ酪酸が取り込まれている。これはおそらく母体の側の子宮胎盤組織で消費されているものと考えられる (Bell, 1993)。

4. 胎子のエネルギー要求量

(1) 妊娠時におけるエネルギー要求量

妊娠中の母牛を屠殺して、胎子、付属器官および生殖器のエネルギー蓄積量を直接測定した結果、妊娠日数に対するそれらの合計エネルギーの蓄積曲線は、以下のように求められ、多くの研究者に引用されている。

$$Y=416.2 \times e^{0.0174t}$$

(Y (kcal) :エネルギー含有量, t:妊娠日数, R=0.976) (Jakobsen *et al.*, 1957)
黒毛和種においても同様に、エネルギーの蓄積曲線として次式が示されている。

$$Y=757.551+132.115 \times t-181484 \times t^2+0.0070812 \times t^3$$

(Y (kcal) :エネルギー含有量, t:妊娠日数, R=0.999) (吉田ら, 1983)
乳牛の妊娠時における代謝エネルギー要求量は、Moe and Tyrrell (1972) が 97 例の代謝試験の結果から、次式を求めている。

$$Y=100.8+0.567 \times e^{0.0174t}$$

(Y:代謝エネルギー要求量 (kcal/kg^{0.75}/day), t:妊娠日数)

乳牛版日本飼養標準（農林水産省技術会議事務局, 1987b）では、妊娠末期における飼料増給として、妊娠期間での胎子へのエネルギー蓄積総量を 54Mcal（Moe and Tyrrell, 1972）、胎子への蓄積効率を 15%として、これを妊娠末期 60 日間に平均して給与するものとして考えており、1 日 1 頭当たりの代謝エネルギー要求量は、5.9Mcal となっている。

また、黒毛和種妊娠牛においては、岩崎（1986）の代謝試験の結果から、妊娠末期の 1 日あたりの代謝エネルギー要求量を以下のように求めている。

$$ME=0.105 \times W^{0.75}+5.787 \times 10^{-11}t^{4.45601} \quad (t>220)$$

(ME:代謝エネルギー要求量 (Mcal/day), W:体重 (kg), t:妊娠日数)

(2) 双胎妊娠牛におけるエネルギー要求量

米内ら（1994）は、黒毛和種および日本短角種の双胎妊娠牛を肉用牛版日本飼養標準（農林水産省技術会議事務局, 1987a）に対して TDN100%または 120%の給与水準で飼養した結果、TDN100%給与区では 120%給与区よりも、血中グルコース、ヒドロキシ酪酸および遊離脂肪酸濃度は著しく高く、分娩後初回発情までの日数が長くなっていることを観察している。TDN120%給与区では、単胎妊娠牛との違いはみられなかった。このことから、日本飼養標準に示されている養分要求量の 120%で飼養することで、双胎妊娠によるエネルギー不足が分娩後の繁殖成績に及ぼす悪影響を低減しうることを示している。しかし、妊娠末期に粗飼料のみの給与では、双子分娩牛の発情回帰は単子分娩牛よりも 8 日程度遅れている。そこで、妊娠末期に TDN 給与量の 25%程度を濃厚飼料を給与することで、さらに分娩後の発情回帰が早期化し、ほぼ単子分娩と同時期となることを認めた（米内ら, 1995）。

佐藤ら（1994）は、アバディーンアンガスおよびヘレフォード経産牛を用いて、双胎妊娠時の代謝エネルギー要求量が単胎牛の 1.5 倍であることを示している。また、Koong ら（1982）の式を用いて妊娠中の維持に要する代謝エネルギー要求量が非妊娠時よりも上昇していることを示唆している。これは、Koong

らの結果と同様の傾向である。妊娠牛の基礎代謝量の測定が困難であり、胎子の成長に伴って発生する熱と、母牛の代謝活動によって生じる熱を分けることが困難である（岩崎, 1986）ことから、妊娠中の維持に要する代謝エネルギー要求量が上昇するかどうかについては明らかになっていない。体内各臓器の動静脈溶存酸素濃度差および血流量を測定することによって、それぞれの臓器における熱発生量を推定する手法を活用することによって、妊娠中の肝臓における酸素消費量の増加が報告されており（Freetly and Ferrell, 1997）、妊娠牛における基礎代謝量の増加が示唆されている（Ferrell and Reynolds, 1985）。

（3）エネルギー利用効率

母体の摂取した代謝エネルギーが胎子によって利用される効率は、乳牛で 10.5%（Moe and Tyrrell, 1972）、14.9%（Henseler and Jentsch, 1973）、ヘレフォード種で 14%（Ferrell *et al.*, 1976a）、黒毛和種で 15%（岩崎, 1986）との報告がある。胎子蓄積への代謝エネルギー利用効率は、維持で 70-80%、泌乳で 60-70%、発育や肥育で 40~60%（Moe and Tyrrell, 1973）といわれていることと比較して著しく低くなっている。

5. 胎子の成長に影響する要因

（1）血流量

胎子への養分供給を制限する要因として考えられるものとして、子宮および臍帯動静脈の血流量があげられる。牛の妊娠子宮への血流量は、妊娠 137 日に比べて 250 日では 4.5 倍に、臍帯の血流量は 21 倍になっている（Reynolds *et al.*, 1986）。妊娠末期のヒツジの給与量を制限すると、子宮を通過する血流量は、低栄養の場合 32%減少し、その結果、子宮での酸素とグルコースの取り込み量はそれぞれ 63%および 66%低下している（Bell, 1984）ことがわかっている。Ferrell and Reynolds（1992）は、妊娠 177 日における胎子 1 頭当たりの子宮の血流量を測定し、双胎牛では 5.22 ± 0.34 L/分、単胎牛では 6.65 ± 0.28 L/分と、双胎牛の方が低かったと報告している。臍帯血流量においても、双胎妊娠牛で

は 1.08L/分，単胎牛では 1.32L/分と，同様に双胎牛の方が低いことが観察されている。

(2) 環境温度（暑熱）

暑熱ストレス環境下でも同様の傾向が観察されており，牛では，妊娠 100 日目から暑熱環境下で飼養した場合，妊娠 180 日目には 22%胎子の重量が減少した。その際，子宮および臍帯血流量は，それぞれ 50 および 30%低下していた。胎子の酸素およびグルコースの正味取り込み量は，暑熱ストレスによって 22%および 65%低下し，子宮胎盤組織での取り込み量は酸素で 49%，グルコースで 42%減少した（Reynolds *et al.*, 1985）。このことから，暑熱ストレスは胎子よりも子宮胎盤組織でのエネルギー代謝に対する方が影響が大きいことがわかる。

(3) 品種

Ferrell (1991a, 1991b) は，シャロレー種とブラーマン種を用いて，母体の違いが胎子の成長に及ぼす影響について検討している。シャロレー種胎子の場合，妊娠 230 日での胎盤重量および子宮血流量は，母親がブラーマン種では，それぞれ 4.66kg，4.66L/分であり，母親がシャロレー種では，それぞれ 5.56kg および 9.24L/分と，いずれもシャロレー種の母親の方が大きい値を示している。また，妊娠 230 日では，母親の品種は胎子の体重には影響はなかったが，妊娠 270 日におけるシャロレー種胎子の体重は，母親がブラーマン種の場合は 33.9kg，シャロレー種の場合は 46.9kg と大きな差がみられ，胎子の成長には母体の環境が大きく影響しているとの結果を得ている。

Bellows ら (1990) は，妊娠 95，180 および 250 日の牛を屠殺して，妊娠日数，胎子数，性および胎子の品種の違いが妊娠子宮および胎子の成長に及ぼす影響について検討している。胎子 1 頭当たりの胎盤重量は，双胎牛では妊娠 95 日においてすでに単胎牛よりも低く，胎子の成長の遅延が妊娠の早い段階で起きていることが示唆されている。妊娠子宮の重量は，妊娠 180 日と比較して，妊娠 250 日では約 2 倍に増大し，双胎牛に比べて単胎牛では，約 23%大きい

と報告している。

(4) 母体の栄養状態

母体から胎子へのグルコースの輸送は、拡散によって行われる (Stacey *et al.*, 1978) ので、母体と胎子の血中のグルコース濃度の差が影響してくる。制限給餌したヤギでは、妊娠末期には低血糖症になっている (Bergman, 1973)。母体の側の血中グルコース濃度が減少すると、濃度差が減少して、結果的に妊娠子宮への取り込み量が低下することになる (Hay Jr. *et al.*, 1984c)。

ところが、妊娠末期のヤギを5日間にわたって絶食させた場合でも、胎子へのアミノ酸取り込み量にはほとんど影響はない。これは、ほとんどのアミノ酸が能動輸送で取り込まれるために、母体の血中アミノ酸濃度に影響を受けないためであろうと考えられる。ただ、エネルギー不足の状態が長く続くと、グルコース不足を補うために、エネルギー源としてアミノ酸を利用するようになり、蛋白の合成や胎子組織の蓄積が犠牲となり、結果として、胎子の発育の遅れが起こることとなる (Lemons and Schreiner, 1983)。

6. 母体の適応

妊娠末期には、妊娠子宮の増大によって、ルーメン等の消化管が圧迫されて、摂取量が減少する例がみられる (Forbes, 1969)。その際、母体血中の遊離脂肪酸濃度が上昇し (Everts, 1990b)、体脂肪が動員されていることがうかがえる。胎子は、母体で動員される脂肪を直接利用することはできない。母体ではこのような動員脂肪の体組織での利用性を上昇させ、グルコース、アミノ酸等の使用量を減らし、胎子への供給量を増加させているのではないかと考えられる。

母体の妊娠末期の栄養代謝の適応には、栄養状態が大きく関係している。例えば、肝臓での糖新生量は、自由採食時には、妊娠末期のヤギの方が非妊娠ヤギよりも多いとの報告がある。特に、妊娠日数と胎子数に応じて高くなっている (Steel and Leng, 1973)。

妊娠中の母体組織での酢酸の代謝については、報告がほとんどみられない。

酢酸の供給量は摂取量によって影響されるため、骨格筋での酢酸の取り込みや代謝は、妊娠末期にはおそらく減少しているものと考えられる。これは、妊娠末期には要求量を満たす量が摂取できなくなってくるためである (Bell, 1993)。

妊娠末期には、要求量に不足しないように注意して飼料を給与している場合でも、遊離脂肪酸やケトン体の血中濃度は上昇する (Pettersson *et al.*, 1994)。特に分娩が近づくと大きく上昇する。妊娠ヒツジの肝臓や骨格筋などの、妊娠子宮以外の組織での遊離脂肪酸やケトン体の取り込みや代謝量は、血漿中の濃度と直接関係している (Pethick *et al.*, 1983)。遊離脂肪酸が肝臓で不完全に代謝されると、3-ヒドロキシ酪酸が生成されて、血液中濃度が上昇する (Pethick and Lindsay, 1982)。

妊娠末期のヒツジで、蛋白の摂取量が増加しているにもかかわらず、非妊娠ヒツジよりも血中の尿素濃度が低いことが観察されている。これは、おそらく肝臓でのアミノ酸の分解が減少しているためと考えられる (Herriman *et al.*, 1976)。

妊娠期の肝臓以外の組織、特に骨格筋でのアミノ酸代謝については、ラットでは、母体の筋肉中での蛋白の分解とアミノ酸の放出が妊娠末期に増加していることが観察されている (Ling *et al.*, 1987)。反芻動物での母体組織からのアミノ酸の動員は、妊娠末期のヒツジで、組織中の蛋白含量の減少や、筋肉の重量の低下が観察されていることから、動員されている可能性があると推測される。

アミノ酸代謝の特徴についてはあまり解明されていないが、肝臓での蛋白の合成量が増加し、アミノ酸への分解量が減少している可能性が考えられる。以上のような母体内での栄養代謝の変化は、妊娠末期に栄養摂取量が減少したときに、母体の脂肪と蛋白の蓄えを動員して、妊娠子宮でのグルコースやアミノ酸の利用量を増加させ、胎子の発育を正常に継続させるために行われているものと考えられる。

以上のように双胎妊娠の長所と短所、単胎牛の妊娠末期における養分代謝に関しては一定の知見が得られているが、双胎牛の妊娠末期における養分要求量、

体内での養分代謝と母体の反応，飼料摂取量の特徴と最適給与法等の飼養技術について総合的に検討した報告はない。

第 2 章 黒毛和種牛の受精卵を移植したホルスタイン種雌牛の妊娠末期におけるエネルギー要求量

これまで、妊娠牛の妊娠末期における栄養要求量に関する研究は数多く行われてきている（橋爪ら, 1964a; Moe and Tyrrell, 1972; 岩崎, 1986）が、牛の自然双胎発生率が低いため、双胎妊娠時の実験データは極めて少なく（Koong *et al.*, 1982）、その養分要求量については明らかにされていない。双胎牛は単胎妊娠牛よりも養分要求量が大きいと考えられるので、早期の妊娠診断と適正な栄養管理が重要となる。さらに、乳牛が黒毛和種牛のような肉用種の胎子を妊娠しているデータはほとんどみられない。

そこで本章では、最近急激に増加しつつある黒毛和種の受精卵を移植した単胎および双胎妊娠のホルスタイン種乳牛の、妊娠末期における養分要求量について検討した。

材料と方法

黒毛和種受精卵を移植した経産のホルスタイン種雌牛の単胎牛を 12 頭（平均体重： 594.7 ± 91.7 kg, 平均産次：2.3 産）および双胎牛を 6 頭（平均体重： 637.4 ± 79.2 kg, 平均産次：2.3 産）用いて、乾乳の後、妊娠 190 日から分娩時までを試験期間とする飼養試験を行った。飼料給与量は、日本飼養標準（農林水産省技術会議事務局, 1987a, 1987b）に従って、妊娠 190 日目の体重を基準として算出した。なお、試験期間中の給与量は一定とし、体重の増加に伴う増給は行わなかった。単胎牛に対しては、可消化養分総量（TDN）でホルスタイン種の維持要求量のみ（SP0）、維持要求量に黒毛和種の胎子 1 頭増給分（SP1）、または 2 頭増給分を加えた量（SP2）を満たすものとした。双胎牛に対しては、維持要求量に黒毛和種の胎子 1 頭増給分（TP1）、または 2 頭増給分を加えた量（TP2）を満たすものとした。飼料は、イタリアンライグラス 2 番草乾草ウ

エハーおよび配合飼料とし、これらを 7:3 の比率で混合したものを 2 回に分けて給与した。水および固形塩は全試験期間を通じて自由に摂取できるようにした。給与飼料の化学組成は Table 1 に示したとおりである。

供試牛は、試験期間中、温度 20℃、湿度 60%に設定した環境制御実験室（岩崎ら, 1982）に収容し、個体別に管理した。また、その期間中の妊娠 210 日、238 日および 266 日時に 7 日間の全糞採取法による消化試験を行い、このうち 3 日間に開放型呼吸試験装置を用いた呼吸試験を併せて実施し、熱発生量を測定した。供試牛の熱発生量は、酸素消費量、二酸化炭素発生量、メタン発生量および尿中窒素排出量から、Brouwer の式（Brouwer, 1965）を用いて計算を行った。また、供試飼料と糞の一般成分および尿の窒素は常法（森本, 1971）により測定した。糞のエネルギー含量は、60℃で 48 時間通風乾燥後、および尿のエネルギー含量は試料を凍結乾燥後、いずれも燃研式熱量計（島津 CA-3 型）を用いて測定した。

胎子のエネルギー蓄積への代謝エネルギー（ME）利用効率を算出するため、以下の回帰式を用いた。

$$(MEI - \text{母牛の維持の ME 要求量}) = (1/k_{\text{fetus}}) \times RE_{\text{fetus}} + (1/k_{\text{dam}}) \times RE_{\text{dam}} \text{----- (1)}$$

MEI:ME 摂取量, k_{fetus} :胎子の ME 利用効率, k_{dam} :母牛の ME 利用効率
 RE_{fetus} :胎子へのエネルギー蓄積量, RE_{dam} :母牛へのエネルギー蓄積量
 なお、母牛の維持の ME 要求量は 116.3kcal/kg^{0.75}（橋爪ら, 1964b）とし、 RE_{dam} は妊娠牛のエネルギー蓄積量から RE_{fetus} を引き去ったものとした。また、胎子へのエネルギー蓄積量は、次式（岩崎, 1986）を用いて求めた。

$$E_{\text{total}} = A \times t^{5.45601} \text{----- (2)}$$

ただし、 E_{total} は胎子へのエネルギー蓄積総量（kcal）、 t は妊娠日齢（日）および A は子牛生時体重で補正した定数を表すものとした。

統計解析は、SAS の GLM プロシジャ－（SAS, 1988）により、妊娠日数ごとに胎子数および給与水準を処理因子とした一元配置法による分散分析を行った。その後、有意差の認められた測定項目については、Tukey の方法により処

Table 1. Chemical composition of hay and concentrate

	DM	CP	EE	CF	NFE	CA	GE
	(%)	----- (% of DM) -----				----- (Mcal/kg DM) -----	
Italian ryegrass hay*	89.3	10.0	2.7	30.0	47.0	10.3	4.10
Concentrate**	87.2	14.9	3.3	6.0	68.7	7.1	4.31

DM: Dry matter, CP: Crude protein, EE: Ether extracts, CF: Crude fiber, NFE: Nitrogen free extracts, CA: Crude ash, GE: Gross energy.
 *: n=10, **: n=9.
 **: Ingredients (DM%): barley 20%, corn 20%, milo 30%, wheat bran 10%, alfalfa 10%, molasses 5.5%, calcium carbonate 1.8%, salt 1.0%, other mineral and vitamins 0.7%.

結果

妊娠末期 3 カ月間の飼養試験の結果を Table 2 に示した。飼料は、双胎牛では妊娠の進行に従って採食量が減少する例がみられたが、単胎牛ではほぼ計画給与量を摂取した。妊娠期間は単胎牛の方が長く、子牛 1 頭当りの分娩時体重は単胎牛の方が大きかった。妊娠末期 3 カ月間の増体量は、母牛と胎子を合わせた妊娠牛全体では単胎および双胎牛のいずれも増加した。しかし、分娩後の体重から試験開始時の体重を引いて求めた母牛のみの増体量は、双胎牛では大きく負となった。

消化率は、妊娠 210、238 および 266 日のいずれの妊娠日数においても給与量が多い方が低く、SP0 が高く TP2 が低い傾向がみられた (Table 3)。乾物および粗繊維の消化率は、SP0 区を除いて 210 日と比較して 266 日に低下する傾向がみられた。

エネルギー代謝試験の結果を Table 4 に示した。単胎牛のエネルギー蓄積量は、SP0 区では妊娠 210 日より負となっており、238 日、266 日と妊娠がすすむに従って大きく負となった。SP1 区でも妊娠が進行するに従って、エネルギー蓄積量は減少してゆき、妊娠 266 日時に負となった。2 頭分増給区ではいずれの時期も大きく正となった。双胎牛は、TP1 および TP2 区のいずれも妊娠が進行するに従って摂取量が減少しているにもかかわらず、熱発生量は増加しており、妊娠 266 日時にエネルギー蓄積量は大きく負となった。

出生時子牛の全エネルギー量は、吉田ら (1983) の結果から求めた以下の式を用いて算出した。

$$Y = -19.0857 + 4.5314t \quad (R^2 = 0.9846) \quad \text{-----} \quad (3)$$

Y: 生体重 1kg あたりのエネルギー含量 (kcal), t: 妊娠日齢 (日)

妊娠期間を単胎牛で 289 日、双胎牛で 283 日として、上記 (3) 式に代入して求めると、Y は単胎牛で 1291kcal および双胎牛で 1263kcal となった。胎子 1 頭当りの体重を、単胎牛で 35kg、双胎牛で 30kg (2 頭で 60kg) とし、胎子へのエネルギー蓄積量を求めると、単胎牛で 45.2Mcal および双胎牛 75.8Mcal となった。式 (2) に代入して定数 A を求めると、単胎牛で 1.691×10^{-9} および双

Table 2. Results of feeding trials with single or twin pregnant

Treatment	SP0	SP1	SP2	S.E.*	TP1	TP2	S.E.*
n (head)	2	7	3		2	4	
Dry matter intake** (g/day)	6760.3 ^A	8410.7 ^B	10449.7 ^C	311.8	7934.0	9145.4	762.6
Length of gestation (days)	289.0	287.4	292.0	2.3	281.5	283.0	3.1
Initial body weight (kg)	537.7	594.4	681.5	49.5	589.0	661.6	47.8
Dam's body weight (kg, after parturition)	525.0	597.6	722.0	45.1	575.5	590.4	39.4
BW gain** dam+fetus (kg/day)	0.52	0.72	1.05	0.16	0.78	0.94	0.19
dam (kg/day)	-0.14	0.02	0.41	0.16	-0.15	-0.84	0.18
Birth weight of calves (kg/head)	37.2	37.1	39.5	2.8	27.4	32.8	3.4

(Least square means, S.E.;Standard Error, A,B,C; p<0.01)

*: Corrected by harmonic mean of the number of cows in each treatment.

**: Last 3 months of gestation.

Table 3. Results of digestion trials with single or twin pregnant cows

Days of gestation	210						238						266					
Treatment	SP0	SP1	SP2	TP1	TP2	S.E.*	SP0	SP1	SP2	TP1	TP2	S.E.*	SP0	SP1	SP2	TP1	TP2	S.E.*
n (head)	2	7	3	2	4		2	4	3	1	4		2	7	3	2	4	
DM(%)	71.4	62.6	63.5	69.3	61.0	2.9	70.4	62.2	62.0	71.4	62.3	2.7	72.2 ^a	61.9 ^{ab}	62.0 ^{ab}	67.0 ^{ab}	59.7 ^b	2.6
CP(%)	55.7	57.8	53.8	59.9	49.4	3.6	56.9	51.3	53.6	54.6	48.8	2.2	58.8	55.4	52.2	60.5	48.2	4.0
EE(%)	78.3	77.6	75.4	78.4	75.1	0.9	78.2	76.7	74.3	76.8	77.0	0.8	77.4	76.7	74.8	77.8	75.1	0.8
CF(%)	65.3	55.2	58.5	64.0	51.6	4.3	64.0	52.3	56.0	66.6	53.2	4.4	66.6	52.4	54.1	59.2	49.0	4.9
NFE(%)	81.0	71.2	71.9	77.1	71.2	2.8	79.7	72.6	70.4	81.2	72.9	2.1	81.2 ^a	71.3 ^b	71.5 ^b	74.8 ^{ab}	70.6 ^b	1.7
GE(%)	71.2	62.3	62.8	68.6	60.3	2.9	70.2	61.9	61.3	70.9	61.7	2.6	71.9 ^a	61.0 ^b	61.6 ^{ab}	66.3 ^{ab}	58.9 ^b	2.5

(Least square means, S.E.;Standard Error, a,b; p<0.05)

*: Corrected by harmonic mean of the number of cows in each treatment.

DM: Dry matter, CP: Crude protein, EE: Ether extracts, CF: Crude fiber, NFE: Nitrogen free extracts, GE: Gross energy.

Table 4. Results of energy balance trials with single or twin pregnant cows

Days of gestation	210						238						266					
Treatment	SP0	SP1	SP2	TP1	TP2	S.E.*	SP0	SP1	SP2	TP1	TP2	S.E.*	SP0	SP1	SP2	TP1	TP2	S.E.*
n (head)	2	7	3	2	4		2	4	3	1	4		2	7	3	2	4	
Intake (kcal/kg ^{0.75})	257.9 ^{aA}	299.9 ^b	334.2 ^B	277.7 ^{abAB}	317.8 ^A	11.1	251.5 ^a	295.2 ^{ab}	322.0 ^b	276.2 ^{ab}	303.0	12.2	247.5	290.9	313.5	267.0	273.7	19.2
Feces (kcal/kg ^{0.75})	96.0	113.3	96.4	87.3	125.9	9.6	97.2	112.8	96.3	80.4	116.6	10.7	95.2	113.5	88.1	90.0	113.7	12.0
Urine (kcal/kg ^{0.75})	7.2	8.1	10.6	9.2	7.7	1.1	6.2 ^a	7.1 ^{ab}	10.3 ^b	9.0 ^{ab}	6.9 ^{ab}	0.7	6.5	7.8	9.7	8.7	6.8	0.9
Methane (kcal/kg ^{0.75})	20.3 ^A	21.0 ^a	24.9 ^{bB}	21.2 ^{abAB}	22.8 ^{abAB}	0.7	19.0	20.1	22.4	21.9	21.8	1.1	18.4	19.9	23.7	19.5	19.4	1.1
HP** (kcal/kg ^{0.75})	137.9	143.6	154.1	145.0	152.3	4.9	140.7	145.3	148.0	145.9	154.2	3.9	145.7	151.3	153.3	161.7	167.0	5.8
Balance (kcal/kg ^{0.75})	-3.5 ^A	13.8 ^a	48.3 ^{bB}	15.1 ^{abAB}	9.2 ^a	7.5	-11.7 ^A	10.0 ^{abAB}	45.0 ^{bB}	19.0 ^{abAB}	3.6 ^a	8.0	-18.2 ^a	-1.7 ^{abAB}	38.8 ^{bA}	-12.8 ^{abAB}	-33.2 ^B	11.2

(Least square means, S.E.;Standard Error, a,b; p<0.05, A,B; p<0.01)

*: Corrected by harmonic mean of the number of cows in each treatment.

**: Heat production.

胎牛で 3.182×10^{-9} となった。その結果、胎子へのエネルギー蓄積量を求める式は、以下の通りとなった。

$$\text{単胎牛：} E_{\text{total}} = 1.691 \times 10^{-9} \times t^{5.45601} \text{----- (4)}$$

$$\text{双胎牛：} E_{\text{total}} = 3.182 \times 10^{-9} \times t^{5.45601} \text{----- (5)}$$

(4) および (5) 式を微分して、1 日当たりの胎子への蓄積エネルギー量の計算式を求めると、以下の通りとなった。

$$\text{単胎牛：} RE_{\text{fetus}} = 9.226 \times 10^{-9} \times t^{4.45601} \text{----- (6)}$$

$$\text{双胎牛：} RE_{\text{fetus}} = 17.360 \times 10^{-9} \times t^{4.45601} \text{----- (7)}$$

エネルギー代謝試験の結果、および上記 (6) (7) 式から求めた胎子への蓄積エネルギー量を、(1) 式に代入して計算すると、

$$\text{単胎牛：} MEI-116.3 = 8.591 \times RE_{\text{fetus}} + 1.300 \times RE_{\text{dam}} \quad (R^2=0.949, n=33) \text{---- (8)}$$

$$\text{双胎牛：} MEI-116.3 = 7.621 \times RE_{\text{fetus}} + 1.179 \times RE_{\text{dam}} \quad (R^2=0.924, n=18) \text{---- (9)}$$

となった。(8) および (9) 式から計算した胎子のエネルギー利用効率は、単胎牛で 11.6%，双胎牛で 13.1% となり、大きな違いはみられなかった。そこで、単胎牛と双胎牛を込みにして計算すると、

$$MEI-116.3 = 8.162 \times RE_{\text{fetus}} + 1.275 \times RE_{\text{dam}} \quad (R^2=0.939, n=50) \text{----- (10)}$$

となり、胎子のエネルギー利用効率は 12.3% となった。

以上の結果から、単胎および双胎牛を込みにした胎子のエネルギー利用効率を 12.3% と仮定して、(6) および (7) 式から、1 日当たり胎子発育に必要な ME 量を計算すると、以下の通りとなった。

$$\text{単胎牛：} ME_{\text{preg}} = 7.530 \times 10^{-8} \times t^{4.45601} \text{----- (11)}$$

$$\text{双胎牛：} ME_{\text{preg}} = 14.170 \times 10^{-8} \times t^{4.45601} \text{----- (12)}$$

ME_{preg} : 胎子発育に必要な ME 量 (kcal)

(11) および (12) 式から、母牛の維持と胎子の発育に要する代謝エネルギー算出式を求めると以下の通りとなった。

$$\text{単胎牛：} ME_{\text{req}} = 0.1163 \times W^{0.75} + 7.530 \times 10^{-11} \times t^{4.45601}$$

$$\text{双胎牛：} ME_{\text{req}} = 0.1163 \times W^{0.75} + 14.170 \times 10^{-11} \times t^{4.45601}$$

ただし、 ME_{req} は妊娠牛の代謝エネルギー (Mcal)、 W は母牛の体重 (kg)、 t

は妊娠期間（日）を表すものとした。母牛の体重を 600kg と仮定した場合における妊娠期間と ME_{req} との関係を、胎子数別に Figure 1 に示した。

考察

双胎牛では妊娠の進行に従って採食量が減少する例がみられた。Forbes ら (1969) は、分娩直前には増大する妊娠子宮によりルーメンが圧迫され、採食量が著しく減少すると報告している。また、Lenkeit ら (1966b) は、分娩前 6 週間の採食量の減少と子牛の生時体重との間に有意な関係があることを示した。本試験においても、子牛 1 頭当りの分娩時体重は単胎の方が大きかったが、双胎牛では 2 頭で平均 62kg となり単胎牛の 37.5kg と比較して大きく、消化管が著しく圧迫されているものと考えられた。妊娠牛では、給与水準が高いほど、または同一の給与水準であれば妊娠の進行している方が飼料の消化管通加速度が大きく、消化率が低くなるといわれている (Graham and Williams, 1962)。本試験では、消化率が TP2 区で最も低かったことから、受胎産物による消化管の圧迫によって、消化管内の飼料の通加速度が増加し、消化率の低下が起きたものと考えられる。

Koong ら (1982) は、双胎肉牛の妊娠末期の飼料を自由摂取とした場合、胎子の発育に要するエネルギー要求量が増大する一方で、飼料摂取量が低下するために母牛自身の体重は低下すると報告している。本試験では、母牛と胎子を合わせた妊娠牛全体では単胎および双胎牛のいずれも増加したが、分娩後の体重から試験開始時の体重を引いて求めた母牛のみの増体量は、双胎牛では大きく負となった。

TP1 区では、妊娠 266 日時には熱発生量が増加し、エネルギー蓄積量が負となっており、黒毛和種胎子 1 頭分の増給ではエネルギーがやや不足しているものと推察された。TP2 区では、妊娠 266 日時には TP1 区よりも熱発生量の増加量が著しく、エネルギー蓄積量は大きく負となった。これは、熱発生量の著しい増加に加えて、妊娠の進行とともに飼料摂取量の減少および消化率の低下による、代謝エネルギー摂取量の減少が原因と考えられる。

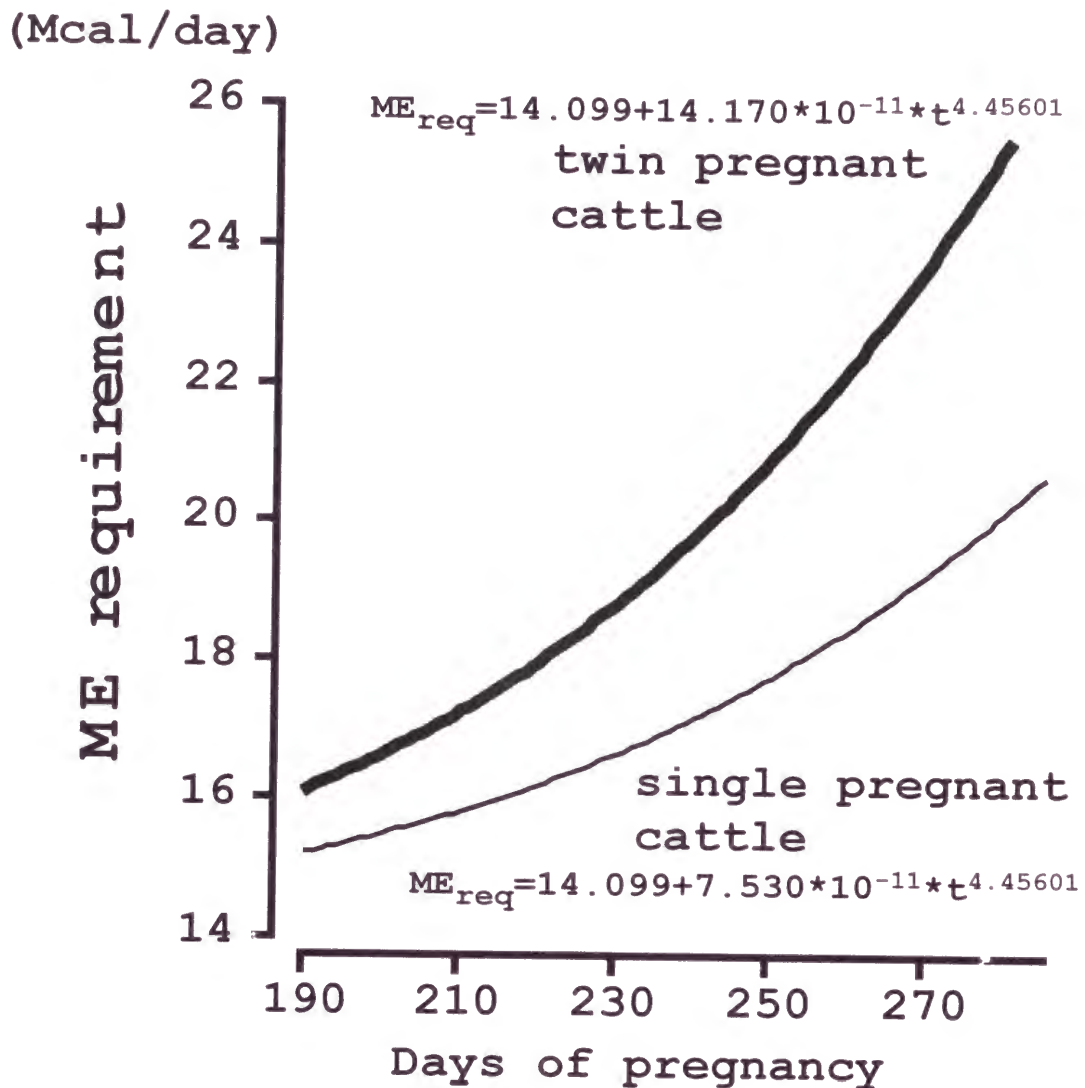


Figure 1. Metabolizable energy (ME) requirement for dairy cattle during last 3 months of pregnancy.
(Maternal live weight is assumed as 600kg.)

SP1 区では、妊娠が進行するに従ってエネルギー蓄積量が減少し、妊娠 266 日時に負となったが、その程度は小さく、母牛がホルスタイン種でも、単胎牛では、黒毛和種を母牛とした場合の成績から求めた黒毛和種胎子 1 頭分の増給で、ほぼ要求量を満たしているものと推察された。

代謝エネルギーの妊娠への正味利用効率は、乳牛で 10.5% (Moe and Tyrrell, 1972), 14.9% (Henseler and Jentsch, 1973), ヘレフォード種で 14% (Ferrell *et al.*, 1976a), 黒毛和種で 15% (岩崎, 1986) との報告がある。比較屠殺試験法により母牛と胎子のエネルギー蓄積量を直接測定した場合、胎子へのエネルギー蓄積への代謝エネルギー利用効率は 12.2% (Ferrell *et al.*, 1976b) であった。肉用牛版 NRC 標準 (1996) では、13%で計算している。今回の値はこれらの数値とほぼ同様であった。胎子蓄積への代謝エネルギー利用効率は、維持で 70~80%, 泌乳で 60~70%, 発育や肥育で 40~60% (Moe and Tyrrell, 1973) といわれていることと比較して著しく低かった。その原因として、妊娠によって母体の基礎代謝量が増加している可能性が考えられるが、ヘレフォード種若雌牛を屠殺して、肝臓、心臓及び腎臓の重量と代謝活性を測定した結果、妊娠牛と非妊娠牛の維持要求量に差はみられなかったとしている (Ferrell *et al.*, 1976b)。しかし、妊娠子宮にカニユーレを装着し、血中酸素濃度の動静脈差から酸素消費量を求め、エネルギー消費量を計算したところ、妊娠による熱増加の 44%を占めるに過ぎなかった (Ferrell and Reynolds, 1985) との報告もある。今回の実験では、双胎牛には負担がかかりすぎると考えて絶食時代謝の測定は行わなかった。各国で公表されている飼養標準の多くが、妊娠中の母牛の維持要求量は非妊娠時と同じであるとの考え方を採用している。そのため、今回は妊娠による基礎代謝量の増加は無いものと仮定して計算を行ったが、非妊娠時、単胎または双胎妊娠時で基礎代謝量が異なるのかは、今後の検討課題である。

単胎または双胎妊娠牛の妊娠末期のエネルギー増給量について、本研究では、胎子の成長が著しい分娩前 60 日間に胎子へ蓄積するエネルギー総量を、毎日平均して一定量増給する場合を想定して試算した。(11), (12) 式および飼養試験の結果から、妊娠期間を単胎牛で 289 日および双胎牛で 283 日として、黒

黒毛和種を妊娠したホルスタイン種乳牛に対する分娩前 60 日間の代謝エネルギー総要求量を計算すると、単胎牛で 265Mcal および双胎牛で 450Mcal となった。これらの要求量を分娩前 60 日間で均等に給与すると、代謝エネルギーの増給量は単胎牛で 1 日あたり 4.4Mcal、双胎牛で 7.5Mcal となった。これらの値は、同様の増給期間を想定した 1987 年版の飼養標準（農林水産省技術会議事務局, 1987a, 1987b）と比較すると、肉牛と乳牛のほぼ中間の値となった。乳牛版 NRC 標準（1996）では、分娩前 2 ヶ月間の妊娠に伴う増給量は、維持の 30%としており、体重 600kg で 1 日当たり代謝エネルギーとして約 4.85Mcal となっている。この値は、本試験の単胎牛の増給量とほぼ同じであり、黒毛和種の子牛の生時体重は乳牛よりも低いことを考えると、本試験の増給量は乳牛版 NRC 標準と比較してやや高めの値と推測される。

可消化エネルギーの代謝エネルギーへの変換係数を 82%，TDN1kg は 4.41Mcal の可消化エネルギーに相当するとすると、単胎牛の増給量は TDN で 1 日あたり 1.2kg、双胎牛は 2.1kg となった。これらの要求量を満たす飼料として、原物中の TDN 含量が 72%程度の配合飼料を用いるものとする、1 日当たりの増給分は単胎牛で 1.7kg、双胎牛で 2.9kg となった。ただし、増大した妊娠子宮により、双胎牛では分娩直前に採食量および消化率が著しく低下するおそれがあるため、摂取エネルギー不足を補う必要があるものと考えられる。本研究では例数が十分でなかったため、飼料構成等に対する補正を定量的に示すことはできなかった。今後さらにデータの蓄積をはかり、より精密な妊娠末期の飼養管理方法を開発してゆく必要がある。

第 3 章 妊娠末期の栄養代謝に及ぼす要因の解明

第 1 節 乳牛の妊娠末期におけるエネルギー水準が血漿代謝産物およびホルモン濃度に及ぼす影響

近年，乳牛の泌乳初期における代謝障害および繁殖障害を最低限に抑えるために，乾乳期における飼養方法と泌乳初期乳量および繁殖成績との関連が指摘されている。乳牛では，妊娠末期には胎子の発育と泌乳の準備のため，養分要求量は乾乳期間中で最大となる（Bell, 1995）が，乾物摂取量（DMI）の減少も観察されており（Forbes, 1995），分娩前 3 週間に養分要求量を満たすだけの飼料摂取が困難であるともいわれている。しかし，乾乳牛の管理にはあまり注意が払われておらず，一般に粗飼料多給の状態で行われている例がしばしばみられている。

妊娠末期の母体は，体組織を動員して胎子の発育に必要な量の養分を供給する機構があり，それらは母体の内分泌動態によって変動すると考えられている（Bauman and Currie, 1980）が，作用機序は未解明である。そこで本節では，単胎妊娠牛を用いて，TDN 摂取量が，妊娠の進行にともなう血中代謝産物およびホルモン濃度の変動に及ぼす影響について検討した。

材料および方法

供試家畜

試験には，母子ともにホルスタイン種の経産妊娠牛 26 頭を用いて，乾乳の後，妊娠 28 週目から分娩時までを試験期間とする飼養試験を行った。

給与飼料

飼料給与量は，乳牛版日本飼養標準（農林水産省技術会議事務局，1994）に従って，妊娠 28 週目の体重を基準として算出した。なお，試験期間中の給与

量は一定とし、体重の増加に伴う増給は行わなかった。試験飼料の給与は妊娠約 29 週目から行い、TDN でホルスタイン種母体のみの維持要求量（M 区）または維持要求量に胎子 1 頭分を増給（MP 区）するものとした。給与飼料は、イタリアンライグラス 2 番乾草またはサイレージ及び配合飼料を 9:1, 7:3 または 5:5 の比率で混合したものとし、午前 8 時 30 分と午後 4 時 30 分の 1 日 2 回に分けて給与した。供試牛は、M 区に 9 頭および MP 区に 17 頭を割りあてた。水および固形塩は全試験期間を通じて自由に摂取できるようにした。

飼料分析

残飼は、朝の飼料給与前に前日 1 日分をまとめて採取し、100℃で 18 時間乾燥して乾物含量を求めた。給与飼料の一般成分は、常法（森本, 1971）により測定した。飼料のエネルギー含量は、燃研式熱量計（島津 CA-3 型）を用いて測定した。TDN 値は、日本標準飼料成分表（農林水産省技術会議事務局, 1995b）を参照した。給与飼料の組成は、Table 5 に示した通りである。

試料採取および分析方法

妊娠 30 週から 40 週まで 2 週に 1 度頸静脈および尾動脈から、それぞれ朝の給餌前に採血した。血液は、氷冷したヘパリンナトリウム及び EDTA ナトリウム入り試験管に採取し、4℃, 3,000rpm で 15 分間遠心分離後、血漿として-20℃で測定まで凍結保存した。

血漿インスリンおよびグルカゴンは、市販の放射性医薬品キット（それぞれインスリン栄研 RIA キット, 栄研化学, 東京およびグルカゴンキット第一, 第一ラジオアイソトープ研究所, 東京）を用いて分析した。血漿中代謝産物濃度の測定は、自動生化学分析装置（CL-7000 型, 島津製作所, 京都）を用いて行った。分析に用いた試薬は、すべて和光純薬工業（大阪）製のものであり、グルコースはグルコース II-HA テスト, 尿素窒素（UN）は尿素窒素 II-HA テスト, 総コレステロール（TCHO）はコレステロール E-HA テスト, および遊離脂肪酸（FFA）は NEFA HA-テストであった。

Table 5. Chemical composition of hay, silage and concentrate

	DM	CP	EE	NDF	CA	TDN*	GE
	(%)	----- (% of DM)			----- (Mcal/kg DM)		
Italian ryegrass hay	88.9	11.5	3.2	55.3	9.9	62.2	4.88
Italian ryegrass silage	51.0	11.6	2.9	62.8	11.4	61.5	4.46
Concentrate**	89.0	16.5	2.5	18.8	6.2	79.2	4.77

DM: Dry matter, CP: Crude protein, EE: Ether extracts, NDF: Neutral detergent fiber, CA: Crude ash, TDN: Total Digestible Nutrient, GE: Gross energy.

*, Data from table value (Nourinsuisangijyutsukaigijimukyoku, 1995b).

**, Ingredients (DM%): corn 30%, barley 25%, wheat bran 9%, defatted rice bran 7%, soybean meal 12%, molasses 3.7%, alfalfa meal 7%, beat pulp 5%, CaCO3 1.3%.

統計解析

給与水準の影響を検討するために、妊娠ステージごとに飼料の粗濃比をブロックとし、給与水準を処理因子とした乱塊法による解析を行った。また、妊娠ステージの影響を検討するために、各給与水準ごとに飼料の粗濃比をブロックとし、妊娠ステージを処理因子とした乱塊法による解析を行った。その後、有意差の認められた測定項目については、Tukey の方法により処理間の有意差を検定した。統計解析は、全て SAS の GLM プロシジャール（SAS, 1988）を用いて行った。

結果

Table 6 には、供試牛の妊娠期間、体重、採食量を示した。妊娠牛の試験期間中の日増体量は、MP 区の方が M 区よりも有意に高かった ($P < 0.05$)。母体のみの増体量は両区ともいずれも負の値となったが、M 区の方が MP 区よりも減少の程度が大きい傾向がみられた ($P < 0.1$)。妊娠期間や子牛の出生時体重には給与量による違いは観察されなかった。

Figure 2 には、試験期間中の DMI の変化を各週の最小二乗平均値で示した。DMI は、MP 区（全期間平均値；9.89kg/day）の方が M 区（全期間平均値；8.15kg/day）よりも全試験期間中有意に高かった ($P < 0.01$)。また、MP 区の DMI は妊娠 39 週目に低下する傾向がみられた。

Figure 3 には、試験期間中の血漿ホルモン濃度を示した。M 区のインスリン濃度は、妊娠 32 週目以降は MP 区より有意に低く、妊娠 36 週目以降は妊娠の進行に従って低下する傾向を示した。M 区のグルカゴン濃度も、妊娠 32 週目以降は MP 区より低く、妊娠の進行に従って減少する傾向がみられ、分娩前 4 週間は有意に低かった。インスリンとグルカゴンのモル比率に明確な差は認められなかった。

Figure 4 および Figure 5 には、試験期間中の血漿代謝産物濃度を示した。本試験では、尾動脈と子宮動脈中の成分濃度はほぼ同一であるものとして、子宮への栄養供給の変動を観察するために動脈血を採取した。グルコース濃度は、

Table 6. Parity, length of gestation, live weight, live weight gain, birth weight of calves, DM intake, TDN intake, CP intake and NDF intake of pregnant cows

Treatment	M	MP		
	LSM	LSM	SE	P
n	9	17		
Parity	3.7	3.5	1.4	NS ¹
Length of gestation (days)	283.6	282.2	6.4	NS
Live weight (kg)				
at the start of experiment	659.9	649.9	20.0	NS
before parturition	686.6	711.8	20.2	NS
after parturition	619.1	642.8	17.3	NS
Live weight gain (kg/day)				
dam + fetus	0.42	0.95	0.51	<0.05
dam	-0.55	-0.12	0.58	<0.1
Birth weight of calves (kg/head)	43.4	45.2	5.3	NS
Dry matter intake ² (kg/day)	8.15	9.89	1.27	<0.01
(% of requirement)	80.4	99.7	8.3	<0.01
TDN intake (kg/day)	5.37	6.32	0.20	<0.05
CP intake (kg/day)	1.07	1.28	0.04	<0.05
NDF intake (kg/day)	4.41	4.16	0.21	NS

LSM: Least Square Means, SE: Standard Error.

1: P>0.1.

2: Last 10 weeks of gestation.

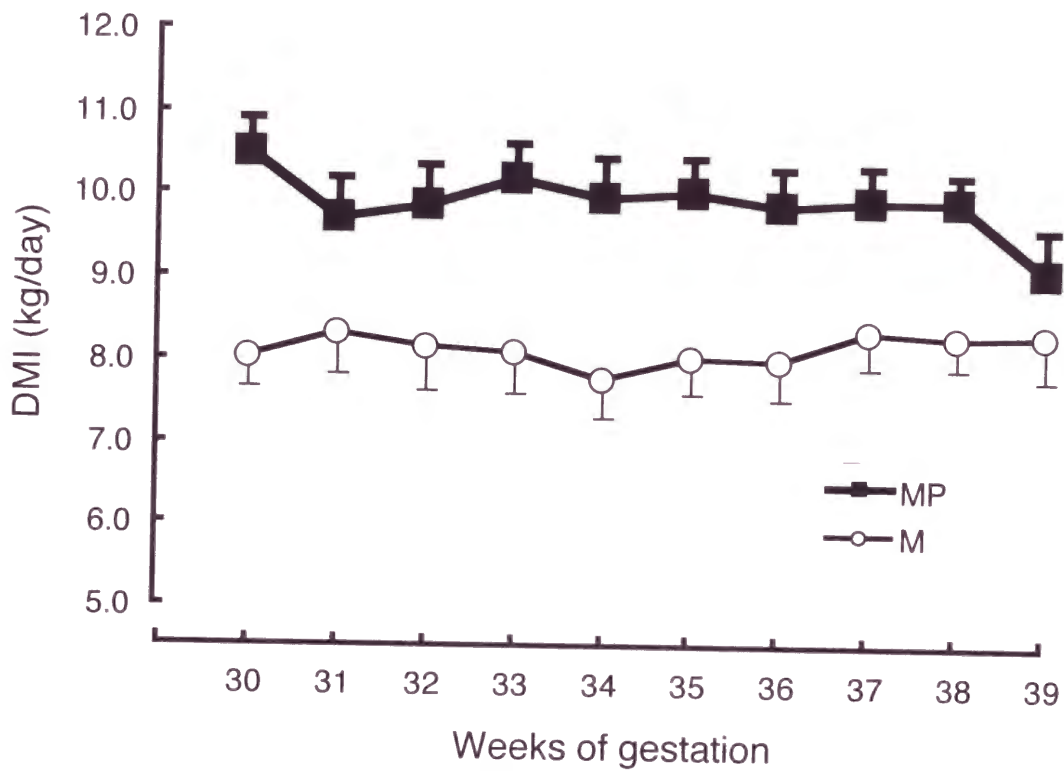


Figure 2. Dry matter intake during last 10 weeks of gestation. Open circle and closed squares indicate least square means \pm SEM of maintenance (M) and maintenance plus pregnancy (MP) level of feeding, respectively. Statistically significant differences ($P<0.01$) were observed between M and MP during the whole experimental period.

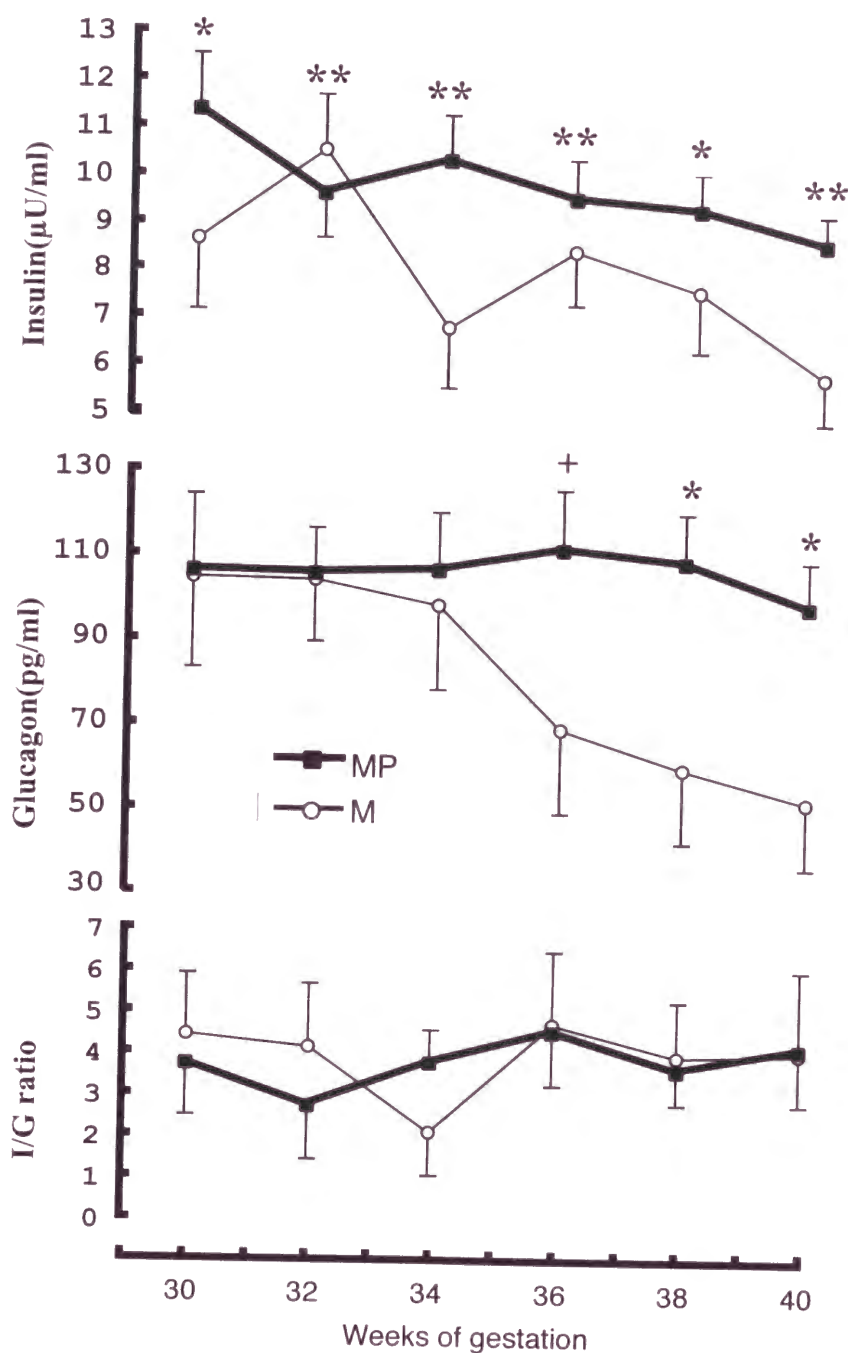


Figure 3. The effect of energy level during last 10 weeks of gestation on plasma insulin(I), glucagon(G) and I/G ratio in dairy cows. Open circle and closed squares indicate least square means \pm SEM of maintenance (M) and maintenance plus pregnancy (MP) level of feeding, respectively. +, * and ** indicate statistically significant differences (+: $P < 0.1$, *: $P < 0.05$ and **: $P < 0.01$, respectively) between the M and MP.

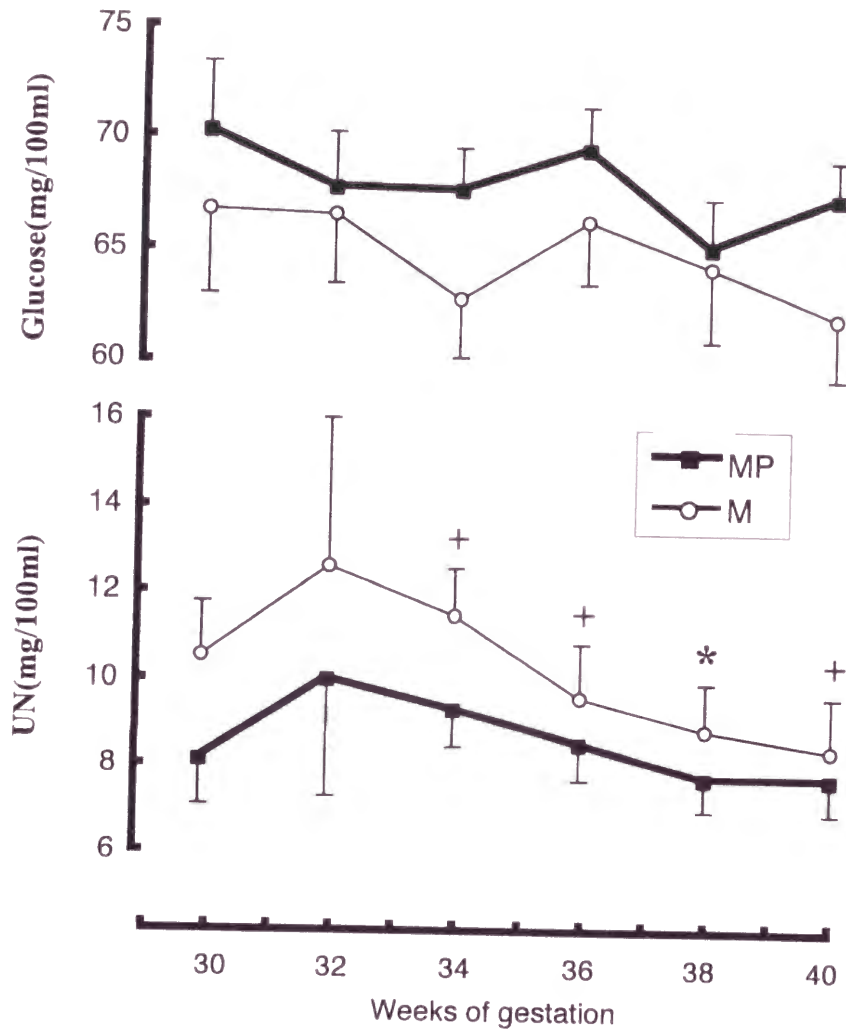


Figure 4. The effect of energy level during last 10 weeks of gestation on plasma glucose and urea nitrogen (UN) concentrations in dairy cows. Open circle and closed squares indicate least square means \pm SEM of maintenance (M) and maintenance plus pregnancy (MP) level of feeding, respectively. + and * indicate statistically significant differences (+: $P < 0.1$ and *: $P < 0.05$, respectively) between the M and MP.

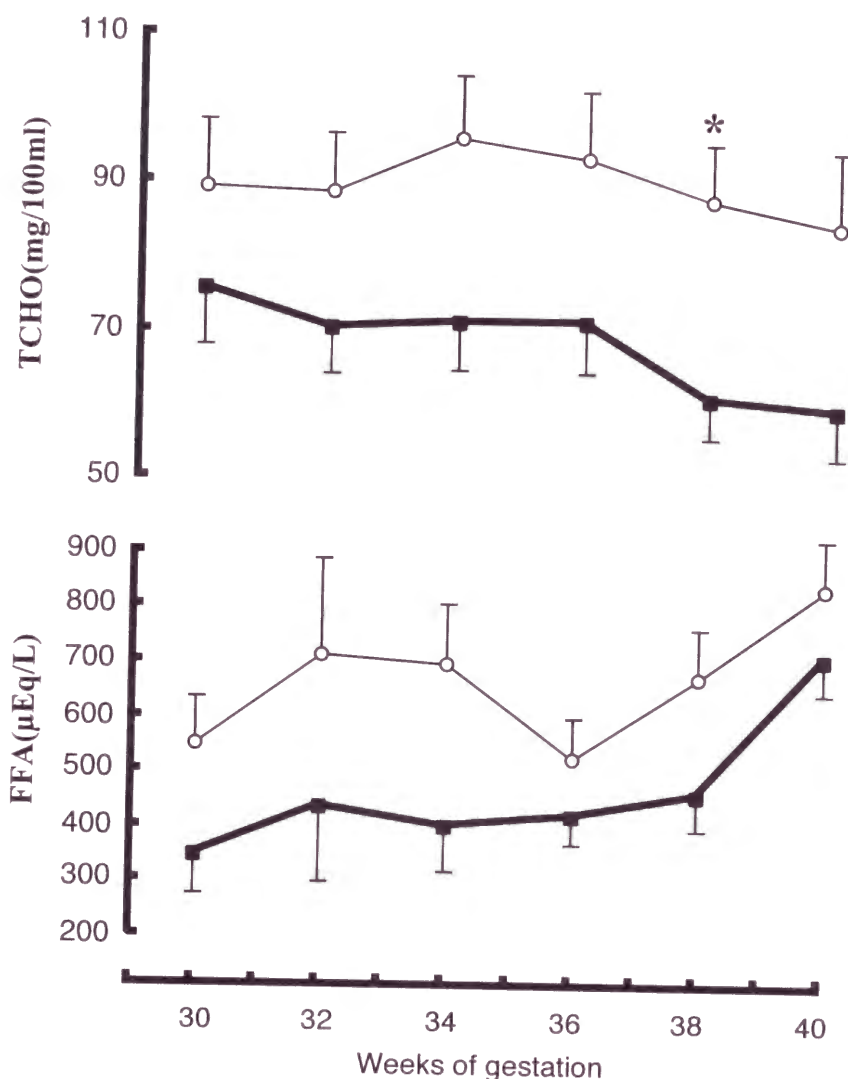


Figure 5. The effect of energy level during last 10 weeks of gestation on plasma total cholesterol (TCHO) and free fatty acid (FFA) concentrations in dairy cows. Open circle and closed squares indicate least square means \pm SEM of maintenance (M) and maintenance plus pregnancy (MP) level of feeding, respectively. * indicate statistically significant differences ($P<0.05$) between the M and MP.

試験期間中はいずれも M 区よりも MP 区の方が高かったが、有意な差ではなかった。M 区の UN 濃度は、妊娠 34 週以降は MP 区より高かった。M 区の TCHO 濃度は、全期間 MP 区より高くなる傾向が観察された。M 区の FFA 濃度は、試験期間中は常に MP 区より高い傾向にあり、妊娠 40 週目に上昇した。MP 区は、妊娠 38 週目まではほとんど変化はみられなかったが、分娩直前の妊娠 40 週目に急激に上昇し、妊娠 30 週目 ($P<0.01$) および 34 週目 ($P<0.05$) よりも有意に高かった。

Figure 6 には、妊娠 34～36 週および 38～40 週における TDN 摂取量と血漿ホルモン濃度との関係を示した。インスリン濃度は TDN 摂取量が増加するに従って上昇する関係がみられたが、グルカゴン濃度は TDN 摂取量が増加するに従って逆に低下する関係にあった。インスリンとグルカゴンのモル比率は、TDN 摂取量が増加するに従って上昇する関係にあった。M 区および MP 区ともに同様の傾向であった。

Figure 7 および Figure 8 には、妊娠 34～36 週および 38～40 週における TDN 摂取量と血漿代謝産物濃度との関係を示した。M 区のグルコース濃度は TDN 摂取量が増加するに従って上昇する関係がみられたが、MP 区では TDN 摂取量が増加するに従って逆に低下する関係にあった。UN 濃度は、TDN 摂取量が増加するに従って低下する関係が観察された。TCHO 濃度は、TDN 摂取量が増加するに従って低下する傾向が見られた。FFA 濃度には、はっきりした傾向は観察されなかった。

考察

Forbes (1968, 1969) は、分娩直前には増大する妊娠子宮によりルーメンが圧迫され、DMI が著しく減少すると報告している。乳牛では分娩前 1～2 週間に、DMI が 10～30%減少することが観察されており (Zamet *et al.*, 1979; Bertics *et al.*, 1992), また、妊娠末期における DMI の減少は、脂肪肝を引き起こすことが知られている。本研究では、MP 区の DMI は妊娠 39 週目に低下する傾向がみられた。また、MP 区の方が M 区よりも全試験期間中有意に高かった (P

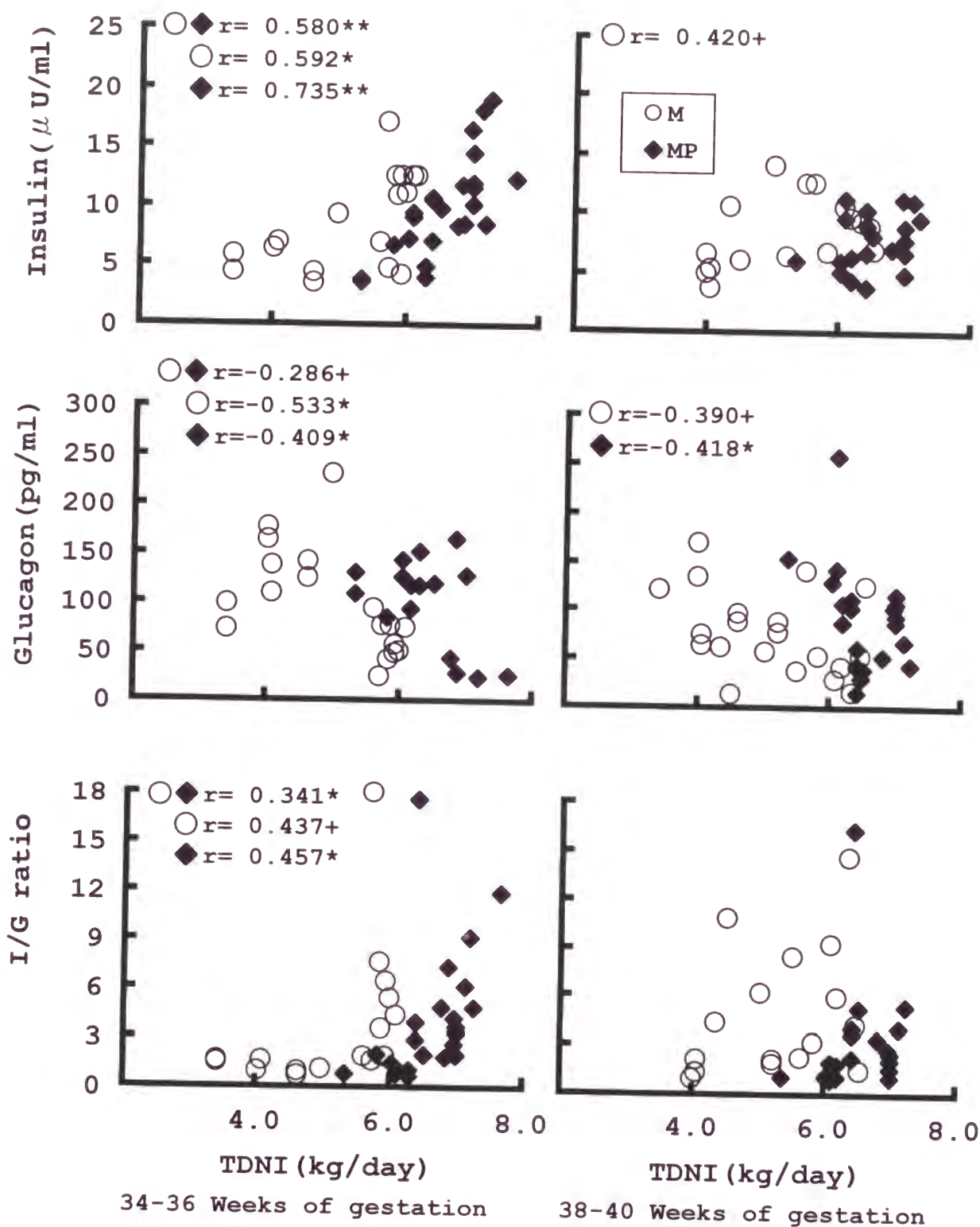


Figure 6. The relationships between TDN intake (TDNI) and plasma insulin(I), glucagon(G) and I/G ratio during 34-36 and 38-40 weeks of gestation in dairy cows. Open circle and closed squares indicate data of maintenance (M) and maintenance plus pregnancy (MP) level of feeding, respectively. +, * and ** indicate statistically significant correlation coefficient (+: $P < 0.1$, *: $P < 0.05$ and **: $P < 0.01$, respectively).

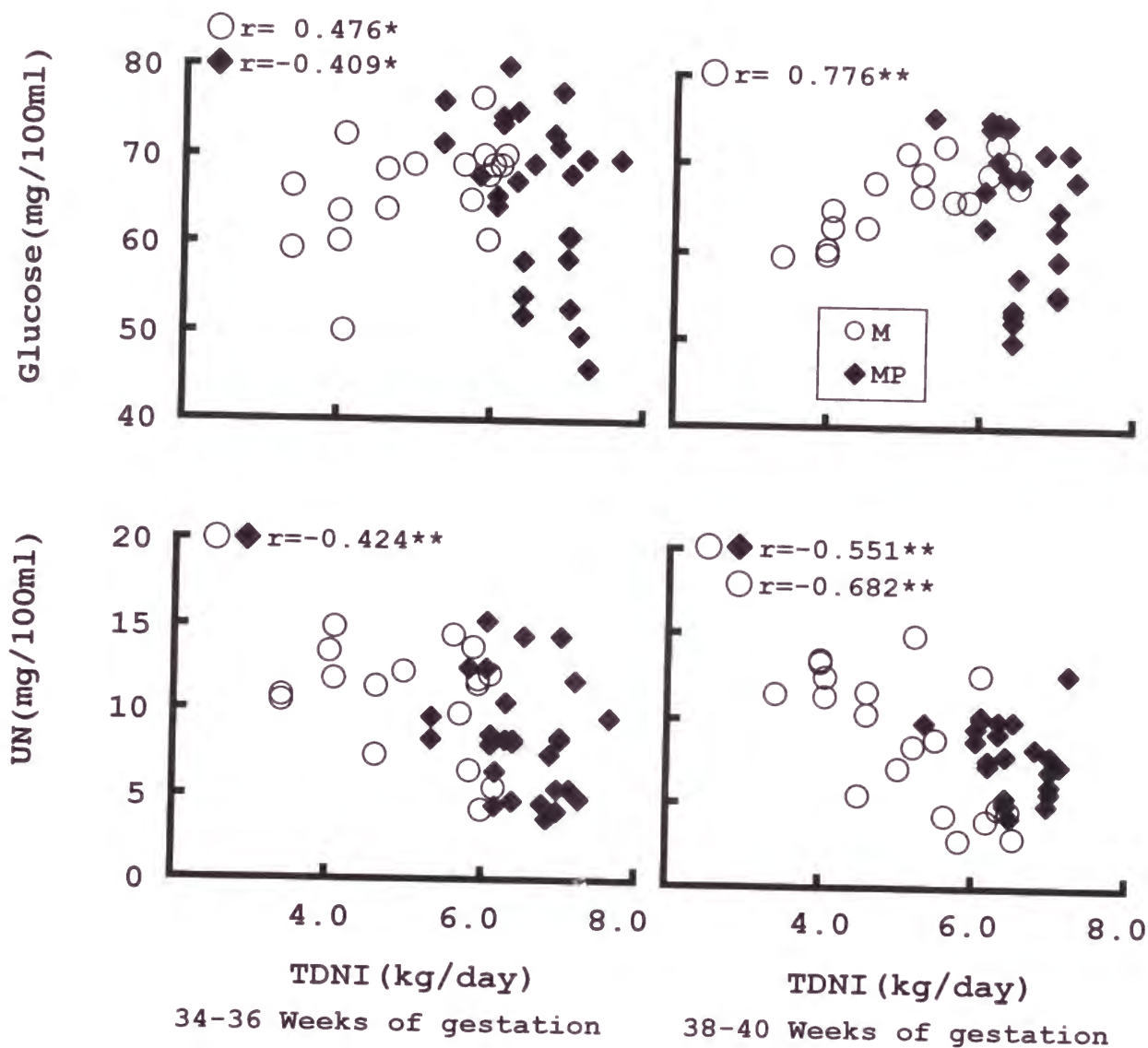


Figure 7. The relationships between TDNI and plasma glucose, urea nitrogen (UN) concentrations during 34-36 and 38-40 weeks of gestation in dairy cows. Open circle and closed squares indicate data of maintenance (M) and maintenance plus pregnancy (MP) level of feeding, respectively. * and ** indicate statistically significant correlation coefficient (*: $P<0.05$ and **: $P<0.01$, respectively).

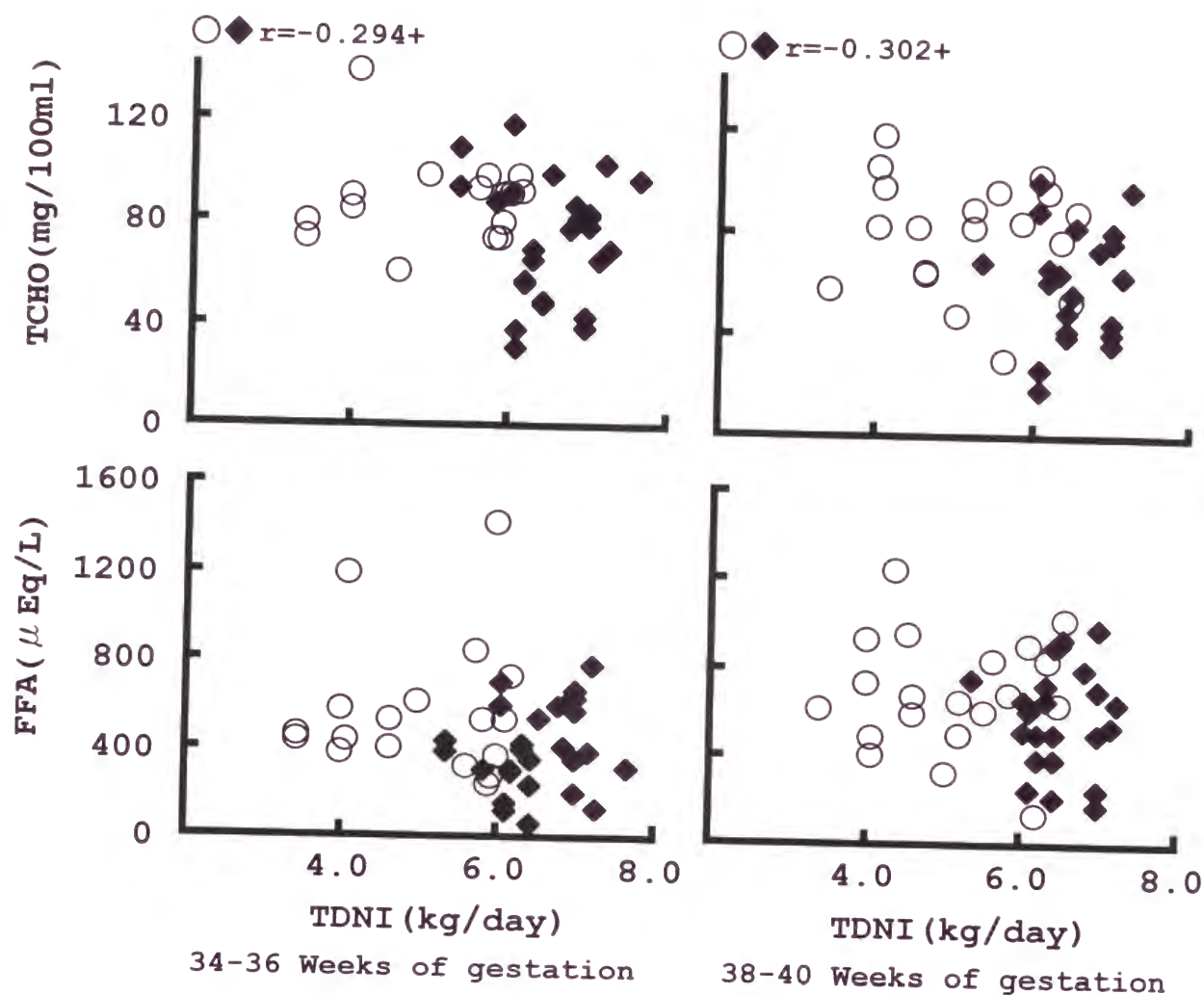


Figure 8. The relationships between TDNI and plasma total cholesterol (TCHO) and free fatty acid (FFA) concentrations during 34-36 and 38-40 weeks of gestation in dairy cows. Open circle and closed squares indicate data of maintenance (M) and maintenance plus pregnancy (MP) level of feeding, respectively. + indicate tendency ($P < 0.1$) of correlation coefficient.

<0.01)。日本飼養標準（農林水産省技術会議事務局, 1994）では、分娩前 2 ヶ月間の妊娠に要する養分要求量を、1 日に代謝エネルギーで 5.90Mcal に相当する飼料を増給することによって満たすものとしている。妊娠ステージの進行に従った妊娠時代謝エネルギー要求量は、 $68.97 \times e^{0.0174t}$ (t は妊娠日数) Mcal/day (Moe and Tyrrell, 1972) となっているため、日本飼養標準乳牛 1994 年版の 5.90Mcal/day を越えるのは妊娠 256 日目であると計算される。このことから、妊娠 255 日目以前は、実際に胎子の成長に要する要求量より多く、妊娠 256 日目以降は要求量よりも少ないものといえる。そのため、妊娠 255 日目つまり、妊娠 36 週目以前は、M 区においても深刻なエネルギー不足には陥っておらず、妊娠 38 週目以降にエネルギー出納が負となっている可能性が大きい。M 区における FFA、インスリンおよびグルカゴン濃度の変化は妊娠 38 週目以降が著しく、このエネルギー出納状態の変化を反映しているものと考えられた。

グルコースは胎子にとって重要なエネルギー源であり、濃度勾配によって母体から胎子へと供給される (Bell, 1993)。そのため、胎子の正常な発達のためには、母体血中のグルコース濃度を胎子よりも常に高い状態で維持する必要がある。本研究では、MP 区のグルコース濃度は、試験期間中常に M 区よりも高い傾向にあったが、その差は大きいものではなかった。エネルギー摂取量が低い場合には、母体での血中グルコースの利用を低下させ、体脂肪などの他の栄養素を利用することによって、血中グルコース濃度を一定に維持する機構が働いているものと考えられた。

本研究では、M 区の FFA 濃度は、試験期間中常に MP 区より高く、分娩直前に急激に上昇し、M 区で $838.8 \mu\text{Eq/L}$ 、MP 区で $712.1 \mu\text{Eq/L}$ となった。血漿 FFA 濃度は、分娩前 17 日から 2 日前までの間に 2 倍に上昇し、分娩時に最高濃度に達することが報告されている (Bertics *et al.*, 1992)。Figure 8 から、それぞれの妊娠ステージにおける TDN 摂取量と血漿 FFA 濃度との間には明確な関係がみられなかった。血漿 FFA 濃度が分娩が近づくに従って増加するのは、この時期に DMI が徐々に減少するとともに、胎子が短期間に著しく増大するため、エネルギー不足になり、体脂肪組織から動員が行われているためである

と考えられた。

DMI の減少によって脂肪肝にいったん陥ると、糖新生の能力が減少し、血漿のグルコース濃度が低下する。そのため、インスリン濃度も低下し、脂肪の動員が促進されるため、血漿 FFA 濃度が上昇するといわれている (Grummer, 1993)。分娩前は、泌乳中とは異なり、FFA は乳腺で消費されることがないため、肝臓に蓄積され、脂肪肝がますます重篤となっていくという悪循環に陥るおそれがある。TCHO 濃度は、肝機能と関係があり、脂肪肝状態では低下する傾向があるといわれている (Reid *et al.*, 1983) が、本研究の M 区において、FFA とともに TCHO 濃度が MP 区よりも高い傾向にあった。

エネルギー摂取量が不足すると、ルーメン内での微生物のエネルギー源が不足し、微生物態蛋白合成能力が低下することによって、ルーメン微生物による窒素利用性の低下および血漿 UN 濃度の上昇がみられることが知られている。本研究においても、M 区の UN 濃度は、試験期間中常に MP 区より高くなる傾向が観察されており、また、同一妊娠ステージにおいては TDN 摂取量が低くなるに従って UN 濃度は高くなる関係にあったため、エネルギー摂取量の不足によってルーメン内で利用されない窒素が増加していると考えられた。

インスリン濃度の低下は、肝臓からのグルコース放出を促進し、母体のインスリン依存性組織におけるグルコースの消費を抑制することが知られている。子宮でのグルコースの利用は、母体のインスリン濃度の影響を受けないため、胎子にとって有利な状況といえる (Hay Jr. *et al.*, 1984b; Rankin *et al.*, 1986)。また、絶食下およびインスリン注入時においても、子宮へのグルコース取り込み量に変化がみられなかった (Brockman, 1993) という報告とあわせて考えると、限られたグルコースが胎子によって優先的に利用されているものと推察された。また、インスリン濃度の低下は体脂肪の動員も促進することとなり、胎子は FFA をエネルギー源として利用できないため (Elphick *et al.*, 1979)、母体組織がグルコースのかわりに FFA をエネルギー源として利用しているものと考えられている (Bell, 1995)。

本研究では、M 区で妊娠ステージの進行によるインスリンおよびグルカゴ

ン濃度の低下が観察された。また、妊娠 34 週目以降における M 区の各妊娠ステージでは、TDN 摂取量が低くなるに従って、インスリン濃度は低く、グルカゴン濃度は高く、インスリンとグルカゴンのモル比率は低くなり、グルカゴン作用が優性となっていた。その結果、M 区では、TDN 摂取量が低い方が肝臓での糖新生やグリコーゲン分解の活発化、および母体組織でのグルコース利用低下という反応が起こっているものと考えられる。これは、母体組織へのグルコースの取り込み量が低下し、体脂肪からの FFA の動員が増加しやすい環境になっているものと推察される。このことから、MP 区と比較して特に摂取エネルギーが不足していると推測される M 区では、限られたエネルギーを胎子へ供給する母体側の反応が起こっているものと考えられる。しかし、M 区の血漿グルコース濃度は、ホルモン濃度が糖新生増大方向へ反応しているにもかかわらず、TDN 摂取量減少に従って低下している。MP 区の血漿グルコース濃度と傾向が異なることから、エネルギー出納が負の状態下では、TDN 摂取量低下が糖新生に与える影響を、内分泌応答で補いきれないものと想像される。

MP 区では、妊娠ステージの進行によるインスリンおよびグルカゴン濃度の変化は観察されなかったが、各妊娠ステージでの TDN 摂取量と血漿ホルモン濃度との関係は M 区と同様であったため、TDN 摂取量の低い方が母体組織へのグルコースの取り込み量が低下し、体脂肪からの FFA の動員が増加しやすい環境になっているものと推察される。

以上の結果から、分娩前にエネルギー摂取量が要求量以下に減少した場合においても、胎子や乳腺の正常な発達のためにエネルギーが配分される機構が働いている可能性が示唆された。ただ、エネルギーの不足分は体脂肪を動員して補うため、このような状態が長期間継続すると、肝臓には、その処理能力を超えた脂肪が流入・蓄積され、体蓄積も低下した状態となる。そのため、分娩前の乾物摂取量を最大にしてエネルギー出納を改善することが、体脂肪の動員を最低限にし、脂肪肝やケトosisを防ぐこととなり、健康で体蓄積が十分な状態で分娩を迎えることによって、泌乳初期の乳量および繁殖成績を改善するものといえる。

第 2 節 妊娠末期のヤギ妊娠子宮への養分供給量に及ぼす胎子数、 栄養摂取量およびホルモン濃度の影響

妊娠末期における精密な栄養要求量を算出するためには、胎子の成長に必要な栄養量を正確に測定する必要がある。いままでは、主として妊娠牛を様々な妊娠ステージで屠殺し、母体、胎子、子宮や胎盤組織などの屠体成分を直接分析することによって、各妊娠ステージにおける養分蓄積量や蓄積効率を求めてきた (Jakobsen *et al.*, 1957; Ferrell *et al.*, 1976b; 吉田ら, 1983; Bell *et al.*, 1995) が、妊娠牛を多頭数屠殺する必要があるため、費用と労力に問題点があった。そこで、これらの胎子への養分蓄積量のデータを基礎として、第 2 章に示したように、全身の代謝試験成績から胎子への養分蓄積効率算出し、妊娠に要する養分要求量を推定する方法などが考えられてきてる (Moe and Tyrrell, 1972; 岩崎, 1986)。最近では、種々の妊娠ステージにおける子宮動脈血液流量および子宮動静脈の濃度差から、直接妊娠子宮の正味養分取込量を測定する方法が考えられている。それらは、海外において、ヒツジ (Bell *et al.*, 1987; Molina *et al.*, 1990) 肉牛 (ヘレフォード種 (Ferrell and Ford, 1980; Reynolds *et al.*, 1986), プラマンおよびシャロレー種 (Ferrell, 1991b; Ferrell and Reynolds, 1992)) について報告されてきている。これらの手法を用いると、体内の内分泌状態と子宮への養分取り込み量を、同時に、かつ経時的に観察できる。そこで本節では、前節において観察した、低栄養条件下における体内内分泌状態が妊娠子宮での正味養分取込量に及ぼす影響について検討するため、胎子数の異なるヤギに母体維持量のみの飼料を給与し、子宮動脈血液流量および子宮動静脈の濃度差に及ぼす影響について検討した。

材料と方法

農林水産省畜産試験場動物実験指針に従って手術および実験を遂行した。

飼料

ザーネン種妊娠ヤギ 10 頭（平均体重 $43.1 \pm 14.6\text{kg}$ ）を代謝ケージにて飼養した。イタリアンライグラス 2 番草乾草および配合飼料を 5:5 の比率で 1 日 1 回朝 9 時に給与した。試験飼料は妊娠 100 日目から給与し、NRC 標準ヤギ版（1981）に従って、可消化養分総量(TDN)で母体維持量のみを満たすものとした。残飼は翌朝収集した。水および固形塩は自由に摂取させた。

手術手順

手術前 24 時間は絶食および絶水した。手術は妊娠 105 日目に全身麻酔下で行った。導入麻酔は、塩酸ケタミン（ケタラル、三共製薬、東京）とキシラジン（セラクタール、バイエル社、ドイツ）を 50:1 の比率で混合したものとし、この 3ml を静注した。ガス麻酔は、酸素とハロセン（フローセン、武田薬品工業、大阪）の混合気体を用い、ソーダライムで炭酸ガスを除去する閉鎖循環方式の麻酔装置を用いて行った。ヤギの左けん部を 20cm 程度切開し、超音波血流計プローブ（直径 2~3mm, トランソニックシステムズ, アメリカ）を子宮動脈に外科的に装着した（Gooden and Giles, 1991）。ヘパリンコーティングされたカテーテル（アンスロン, 14G, 直径 2.1mm, 東レ, 東京）を子宮静脈および頸動脈へ挿入し、ヘパリン加生理食塩水（100IU/ml）で満たした。ヤギは手術後 1 時間以内に立ち上がり、食欲も速やかに回復した。

抗生物質（1,000,000 U プロカインペニシリン G 明治懸濁液; 明治製薬, 東京）を手術直後および術後 3 日間毎日 1 回筋注した。手術後の回復期間中（妊娠 105~110 日）、1 日 1 回カテーテルをヘパリン加生理食塩水にて洗浄し、超音波血流計プローブの機能をチェックした。

飼料分析

供試ヤギは、試験期間中、温度 20℃、湿度 60%に設定した環境制御実験室（岩崎ら, 1982）に収容し、個体別に管理した。妊娠日時に 7 日間の全糞採取法による消化試験を実施した。このうち 3 日間に開放型呼吸試験装置を用いた呼吸試験を併せて実施し、熱発生量を測定した。供試ヤギの熱発生量は、酸素

消費量，二酸化炭素発生量，メタン発生量および尿中窒素排出量から，Brouwer の式（1965）を用いて計算を行った。給与飼料および糞，尿の一般成分は，常法（森本, 1971）により測定した。エネルギー含量は，燃研式熱量計（島津 CA-3 型）を用いて測定した。給与飼料の組成は，Table 7 に示した通りである。

試料採取および分析方法

試料採取時の妊娠日数は，単胎妊娠ヤギ（ $n=4$ ） 119.0 ± 3.3 ，双胎妊娠（ $n=4$ ） 113.5 ± 3.3 および多胎妊娠（胎子数 3， $n=2$ ） 121.5 ± 4.6 日目であり，頸動脈および子宮静脈から，それぞれ 3 時間に 1 度採血した。血液は，氷冷したヘパリンナトリウム及び EDTA ナトリウム+アプロチニン（2,500 IU/ml，トラジロール，和光純薬工業，大阪）入り試験管に採取し， 4°C ，3,000rpm で 15 分間遠心分離後，血漿として -20°C で測定まで凍結保存した。ヘマトクリット値は，ヘパリンを加えた全血をヘマトクリットチューブに吸入し， $10,400 \times g$ で 5 分間遠心分離して測定した。子宮動脈血流量は，超音波血流計（T106，トランスソニックシステムズ，アメリカ）をプローブに接続して，1 分毎の測定値をコンピュータに取り込んだ。

血漿インスリンおよびグルカゴンは，市販の放射性医薬品キット（それぞれインスリン栄研 RIA キット，栄研化学，東京およびグルカゴンキット第一，第一ラジオアイソトープ研究所，東京）を用いて分析した。血漿中代謝産物濃度の測定は，自動生化学分析装置（CL-7000 型，島津製作所，京都）を用いて行った。分析に用いた試薬は，すべて和光純薬工業（大阪）製のものであり，グルコースはグルコース II-HA テスト，尿素窒素は尿素窒素 II-HA テスト，総コレステロールはコレステロール E-HA テスト，および遊離脂肪酸は NEFA HA-テストであった。

血液ガス分析用サンプルは，10ml のシリンジに採取後直ちに栓をし，速やかに溶存酸素分圧およびヘモグロビン濃度を血液ガス自動分析装置（カイロン 840，カイロン株式会社，東京）および CO オキシメーター（カイロン）にて測定した。これらの分析は，試料採取後 5 分以内に終了した。

Table 7. Chemical composition of hay and concentrate

	DM	CP	EE	NDF	CA	GE
	(%)	-----	(% of DM)	-----	(Mcal/kg DM)	
Italian ryegrass hay	87.8	11.1	2.4	66.6	11.1	4.27
Concentrate*	89.0	15.3	2.9	18.4	5.9	4.42

DM: Dry matter, CP: Crude protein, EE: Ether extracts, NDF: Neutral detergent fiber,
CA: Crude ash, GE: Gross energy.

*; Ingredients (DM%): corn 30%, barley 25%, wheat bran 9%, defatted rice bran 7%,
soybean meal 12%, molasses 3.7%, alfalfa meal 7%, beat pulp 5%, CaCO₃ 1.3%.

妊娠子宮への養分取込量の計算方法

血中溶存酸素濃度の計算は以下の式を用いて行った:

$$\text{溶存酸素濃度 (\%)} = \text{物理的溶存酸素濃度} + \text{化学的溶存酸素濃度} = (0.23 \times pO_2 \div 760) \times 100 + 1.34 \times \text{Hb} \times \text{酸素飽和度}$$

pO_2 : 血中溶存酸素分圧 (mmHg)

Hb: ヘモグロビン濃度 (g/ml)

$O_2\text{sat}$: 酸素飽和度 (Kelman, 1966)

妊娠子宮への養分および酸素の正味取込量の計算は、動-静脈濃度差×血液流量から算出した。

統計解析

胎子数の影響を検討するために、サンプリング時間ごとに個体をブロックとし、胎子数を処理因子とした乱塊法による解析を行った。また、サンプリング時間の影響を検討するために、各胎子数ごとに個体をブロックとし、サンプリング時間を処理因子とした乱塊法による解析を行った。その後、有意差の認められた測定項目については、Tukey の方法により処理間の有意差を検定した。統計解析は、全て SAS の GLM プロシジャール (SAS, 1988) を用いて行った。

結果

供試妊娠ヤギの妊娠期間および胎子生時体重は、それぞれ単胎妊娠 136.3 ± 9.5 日, $2.62 \pm 1.09\text{kg}$, 双胎妊娠 135.4 ± 7.4 日, $4.25 \pm 0.85\text{kg}$ および多胎妊娠 136.5 ± 11.7 日, $6.24 \pm 1.34\text{kg}$ であった。

Table 8 には代謝試験実施時における妊娠日数、体重、乾物摂取量、窒素およびエネルギー出納の結果を示した。窒素摂取量は、単胎で妊娠ヤギ (母体維持量+妊娠増給分) の要求量 ($1.44\text{g/kg}^{0.75}$ (NRC, 1981)) の 64.6%, 双胎で 58.3% および多胎で 88.2% を満たす量であった。ME 摂取量も同様に、単胎で妊娠ヤギの要求量 ($177.27\text{kcal/kg}^{0.75}$ (NRC, 1981)) の 56.4%, 双胎で 59.4% および多胎で 71.4% を満たす量であった。多胎妊娠ヤギの体重および乾物摂取量が最も

Table 8. Gestation length, live weight, DM intake, nitrogen and energy balance and gas exchange in pregnant goats

Item	Litter size	Single LSM	SE	Twin LSM	SE	Triplet LSM	SE	Effect ²⁾
n		4		4		2		
Days of pregnancy		119.0	3.3	113.5	3.3	121.5	4.6	
Live weight (kg)		34.2	5.7	42.9	5.7	61.6	8.1	+
DM intake ¹⁾ (g/day)		804.7	90.2	903.7	90.2	1194.6	127.6	
Digestibility (%)								
DM		49.0	4.4	52.5	4.4	63.2	6.3	
Nitrogen		51.5	5.4	51.7	5.4	66.7	7.6	
NDF		44.3	5.3	53.2	5.3	59.4	7.5	
TDN intake (g/day) ³⁾		382.4 ^a	68.0	458.3 ^{ab}	68.0	733.2 ^b	96.2	+
Nitrogen balance (g/kg^{0.75})								
Intake		0.93	0.10	0.84	0.10	1.27	0.14	
Feces		0.43	0.04	0.41	0.04	0.42	0.05	
Urine		0.45	0.08	0.44	0.08	0.49	0.12	
Retention		0.05 ^{ab}	0.07	-0.01 ^a	0.07	0.36 ^b	0.10	*
Energy balance (kcal/kg^{0.75})								
Intake		248.1	8.0	240.2	8.0	243.7	11.3	
Feces		129.8	12.2	117.7	12.2	90.4	17.2	
Urine		8.1	0.7	8.6	0.7	10.0	1.1	
Methane		10.2	2.3	8.6	2.3	16.7	3.2	
HP		117.4 ^A	3.8	120.3 ^A	3.8	148.2 ^B	5.4	**
Retention		-17.5	10.6	-15.0	10.6	-21.7	15.0	
Gas exchange (Nl/day)								
O ₂ consumption		331.2 ^A	40.1	396.6 ^a	40.1	640.8 ^{bB}	56.7	**
CO ₂ production		335.4 ^a	47.6	391.2 ^a	47.6	671.7 ^b	67.3	*
CH ₄ production		15.3	5.5	15.0	5.5	39.6	7.8	+

1) DM: Dry matter, TDN: Total digestible nutrient, NDF: Neutral detergent fiber, GE: Gross energy intake, DE: Digestible energy, ME: Metabolizable energy, HP: Heat production, Nl: Normal liter, MBS: Metabolic body size (live weight^{0.75}).

2) Effect of litter size, +: P<0.10, *: P<0.05, **: P<0.01.

3) a,b: P<0.05, A,B: P<0.01.

大きかった。メタボリックボディサイズ当たりの窒素摂取量は多胎妊娠が最も高かったが、糞中および尿中排泄量が単胎および双胎妊娠時とそれほど違わなかったため、窒素蓄積量は有意に高かった ($P<0.05$)。メタボリックボディサイズ当たりのエネルギー摂取量は、胎子数による違いがみられなかったが、多胎妊娠ヤギの熱発生量が単胎および双胎妊娠時よりも有意に高かったため ($P<0.01$)、エネルギー蓄積量が最も低かった。エネルギー出納は、いずれの胎子数においてもマイナスであった。酸素消費量および二酸化炭素発生量は多胎妊娠ヤギが単胎および双胎妊娠時に比べて最も高く ($P<0.05$)、メタン発生量も高い傾向にあった。

Figure 9 には、朝の飼料給与時を起点とした中子宮動脈血漿流量日内変動を胎子数別に示した。いずれの時間においても、中子宮動脈血漿流量は多胎妊娠時の方が単胎および双胎妊娠より高い傾向にあり、0, 6, 9 および 15 時間目では有意に高かった ($P<0.05$)。単胎および双胎妊娠の間には差はみられなかった。血漿流量の日内変動に関してははっきりした傾向はみられなかった。

Figure 10 には、朝の飼料給与時を起点とした中子宮静脈血漿中グルコース、尿素窒素および遊離脂肪酸濃度の日内変動を胎子数別に示した。血漿中グルコースは、飼料給与 15 時間後を除いていずれの時間においても多胎妊娠時の濃度が有意に高かった ($P<0.05$)。単胎および双胎妊娠の間には差はみられなかった。グルコース濃度の日内変動に関しては、多胎妊娠では、飼料給与後 6 時間まで上昇し、その後減少する傾向がみられたが、単胎および双胎妊娠でははっきりした傾向はみられなかった。血漿中尿素窒素濃度は、飼料給与 3 および 6 時間後には差はみられなかったが、その他の時間では多胎妊娠が単胎および双胎妊娠よりも有意に高かった ($P<0.05$)。尿素窒素濃度はいずれの胎子数においても、1 日の中で飼料給与 6, 9 および 12 時間後に最も濃度が低下する傾向がみられた。血漿中遊離脂肪酸濃度は、飼料給与 15 および 21 時間後を除いて、多胎妊娠が最も低く、単胎妊娠が最も高い傾向にあったが、有意な差ではなかった。多胎妊娠および双胎妊娠では、飼料給与後に遊離脂肪酸濃度が低下し、12 時間後以降上昇する傾向がみられた。

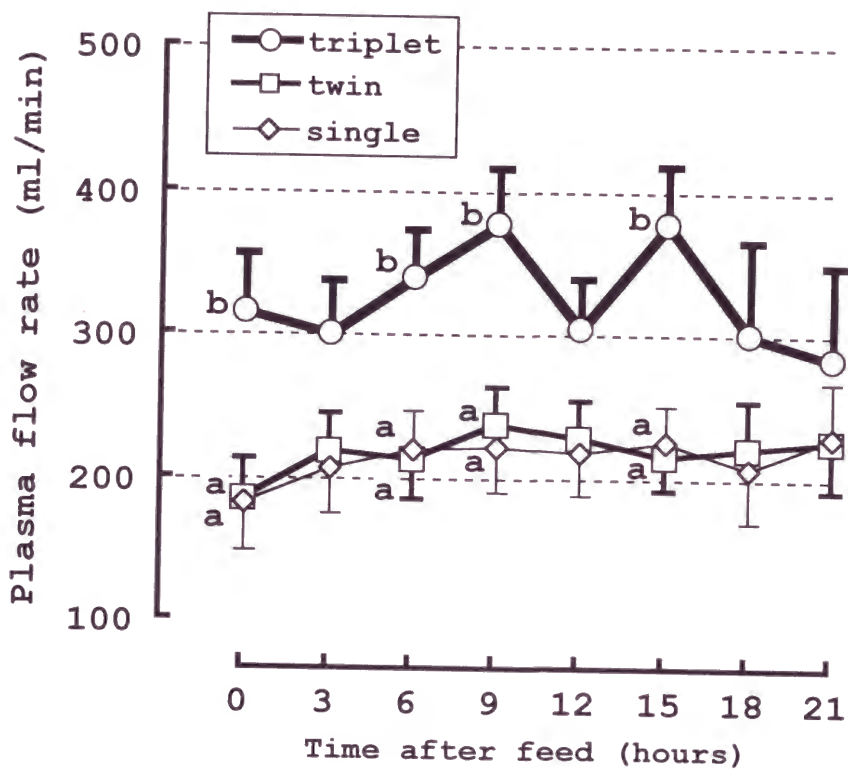


Figure 9. Effect of litter size and time after feed on plasma flow rate of uterine artery in pregnant goats. Values are least square means \pm standard error (a,b: $P < 0.05$, A,B: $P < 0.01$).

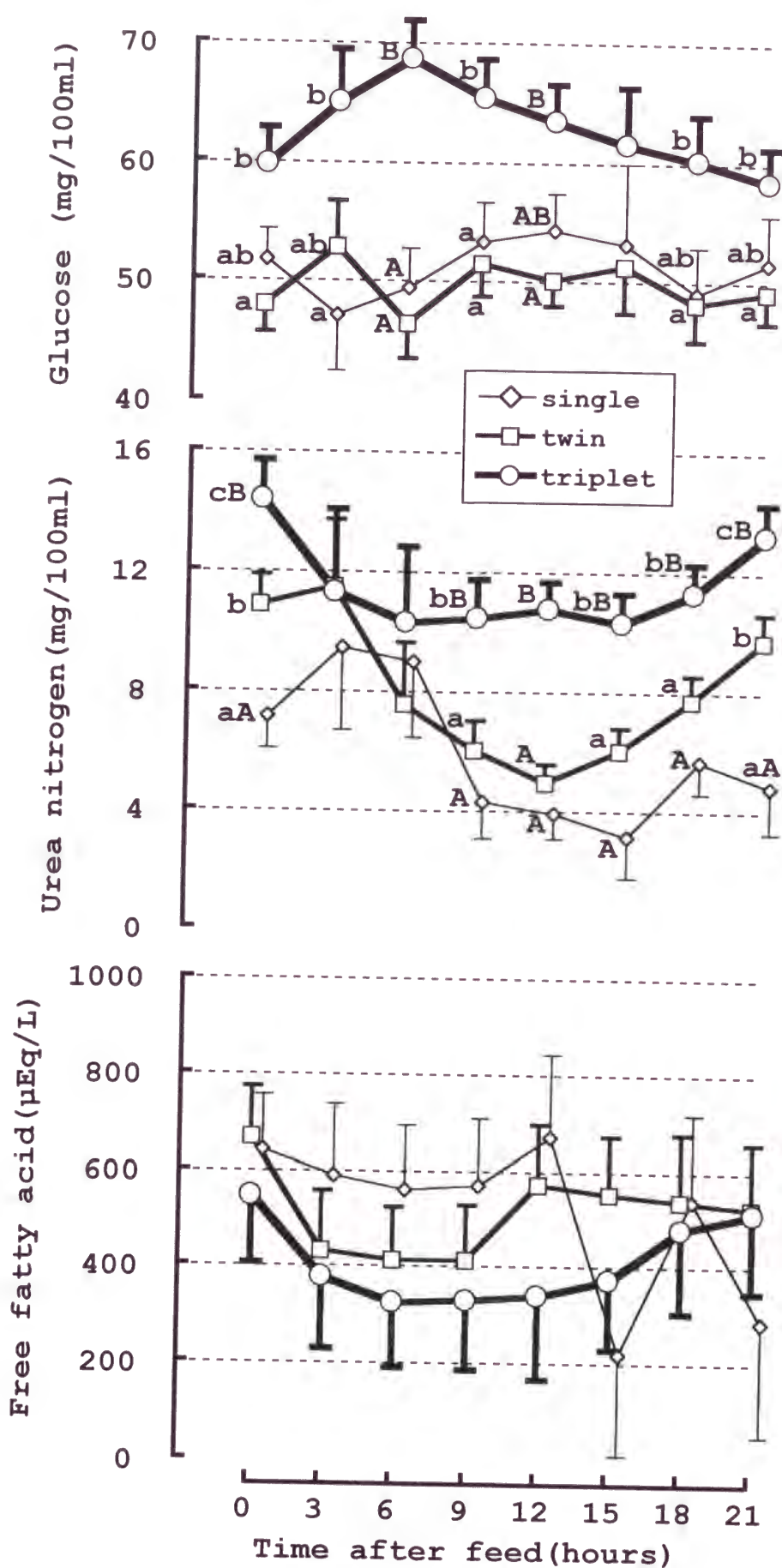


Figure 10. Effect of litter size and time after feed on the plasma glucose, urea nitrogen and free fatty acid concentration of uterine vein in pregnant goat. Values are means \pm standard error (a, b: $P < 0.05$, A, B: $P < 0.01$).

Figure 11 には、朝の飼料給与時を起点とした中子宮静脈血漿中インスリン、グルカゴン濃度およびインスリン：グルカゴンモル比率の日内変動を胎子数別に示した。血漿中インスリンは胎子数による差はみとめられず、日内変動に関してもはっきりした傾向はみられなかった。血漿中グルカゴン濃度は、飼料給与3時間後を除いて、多胎妊娠が常に最も高い傾向にあった。双胎妊娠は日内変動が小さく、40pg/ml 前後で一定していた。単胎妊娠の血漿中グルカゴン濃度は、時間による変動が大きかった。インスリン：グルカゴンモル比率は、1日中常に多胎妊娠が最も低い傾向にあり、いずれの胎子数においても、日内変動はあまりみられなかった。

Table 9 には、子宮動・静脈中血漿、栄養流量およびホルモン濃度の最小自乗平均値を胎子数別に示した。血漿および栄養流量は、遊離脂肪酸を除いて多胎妊娠が有意に最も高かった ($P<0.01$)。インスリン濃度は、胎子数が増加するに従って減少する傾向にあり、グルカゴン濃度は多胎妊娠が単胎および双胎妊娠よりも有意に高かった ($P<0.01$)。

Figure 12 には、妊娠子宮正味養分取込量を胎子数別に示した。妊娠子宮正味グルコース取込量は、胎子数が増加するに従って高くなる傾向にあった。正味尿素窒素取込量は、いずれも負の値であった。

Figure 13 には、妊娠 111 日目における中子宮動脈および静脈血中溶存酸素濃度の日内変動を胎子数別に示した。血液中の溶存酸素濃度は、静脈血中よりも動脈血中の方が大きく、日内の変動はほとんどみられなかった。動脈血中濃度には胎子数による影響はみられなかったが、静脈血中濃度は双胎妊娠の方がいずれの時間においても低かった。

Table 10 には、妊娠ヤギの全身および妊娠子宮での酸素消費量を胎子数別に示した。全身および妊娠子宮での酸素消費量は、単胎妊娠の方が多かったが、全身の酸素消費量の中で妊娠子宮が占める酸素消費量の割合は、双胎妊娠の方が有意に高かった ($P<0.01$)。

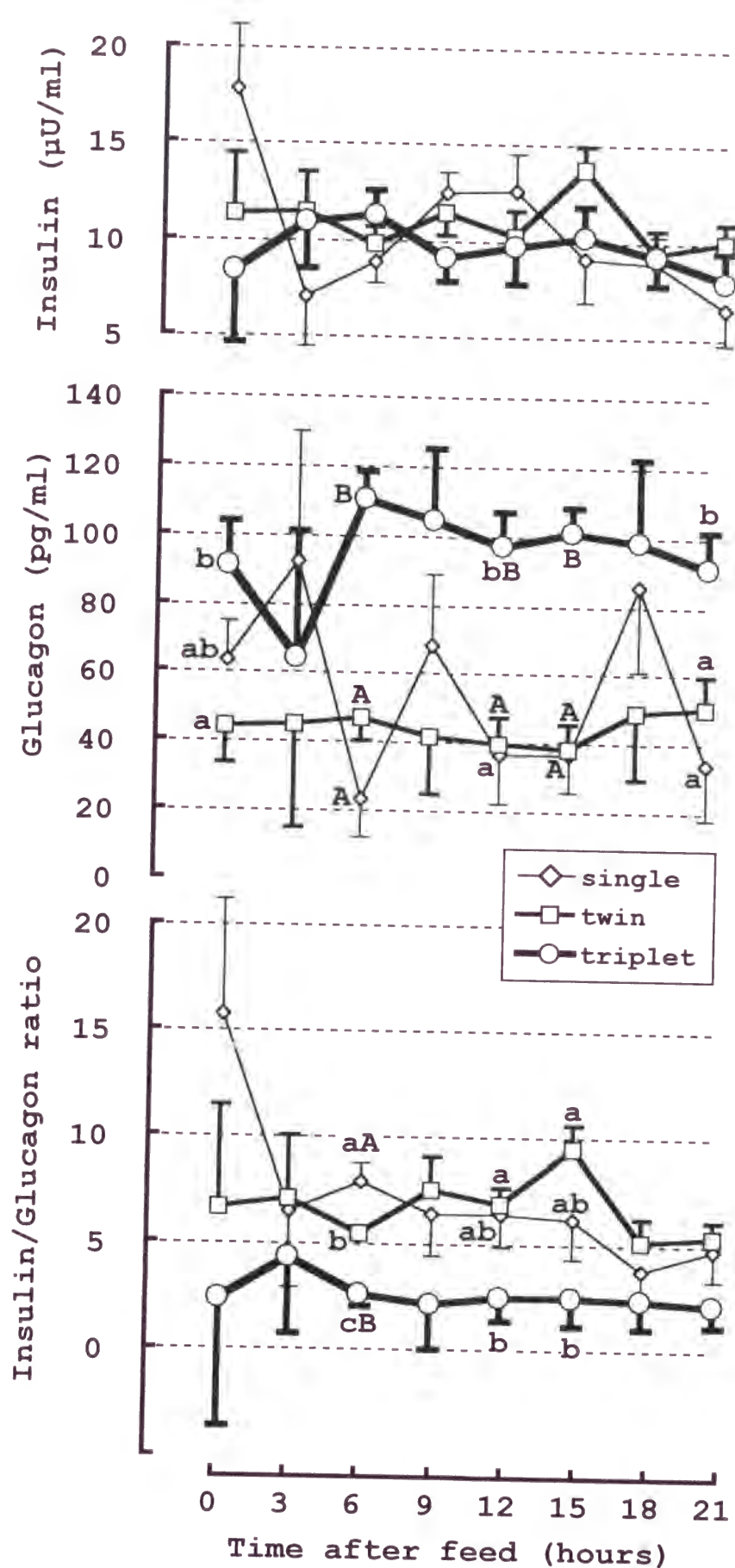


Figure 11. Effect of litter size and time after feed on the plasma insulin(I), glucagon(G) and I/G molar ratio of uterine vein in pregnant goat. Values are means \pm standard error (a, b: $P < 0.05$, A, B: $P < 0.01$).

Table 9. Nutrient flow and hormone concentration in uterine blood vessels at about 120 days of gestation in goats

Litter size Blood	Single				Twin				Triplet			
	Artery		Vein		Artery		Vein		Artery		Vein	
	LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE
Plasma flow (ml/min)	214.1 ^A	19.1	223.5 ^A	13.5	211.0 ^A	9.6	223.3 ^A	11.1	332.1 ^B	13.5	331.8 ^B	13.5
Glucose ¹⁾ (mg/min)	117.2 ^A	13.4	116.0 ^A	9.5	118.5 ^A	6.7	112.3 ^A	7.7	220.9 ^B	9.5	209.3 ^B	9.5
Urea nitrogen (mg/min)	12.7 ^A	3.0	13.5 ^A	2.1	15.3 ^A	1.5	18.5 ^A	1.7	36.4 ^B	2.1	37.6 ^B	2.1
Free fatty acid (μ Eq/min)	155.3	20.3	128.3	14.4	123.3	10.1	111.0	11.7	161.9	14.4	139.8	14.4
Insulin ²⁾ (μ U/ml)			12.7	1.3			11.0	1.0			9.8	1.2
Glucagone (pg/ml)			60.1 ^A	7.6			45.6 ^A	5.7			94.6 ^B	6.9

(A-V: difference between artery and vein, LSM: Least Square Means, SE: Standard Error, a,b: P<0.05, A,B: P<0.01)

1) Net nutrient flow rate and uptake (concentration \times blood flow rate).

2) Concentration.

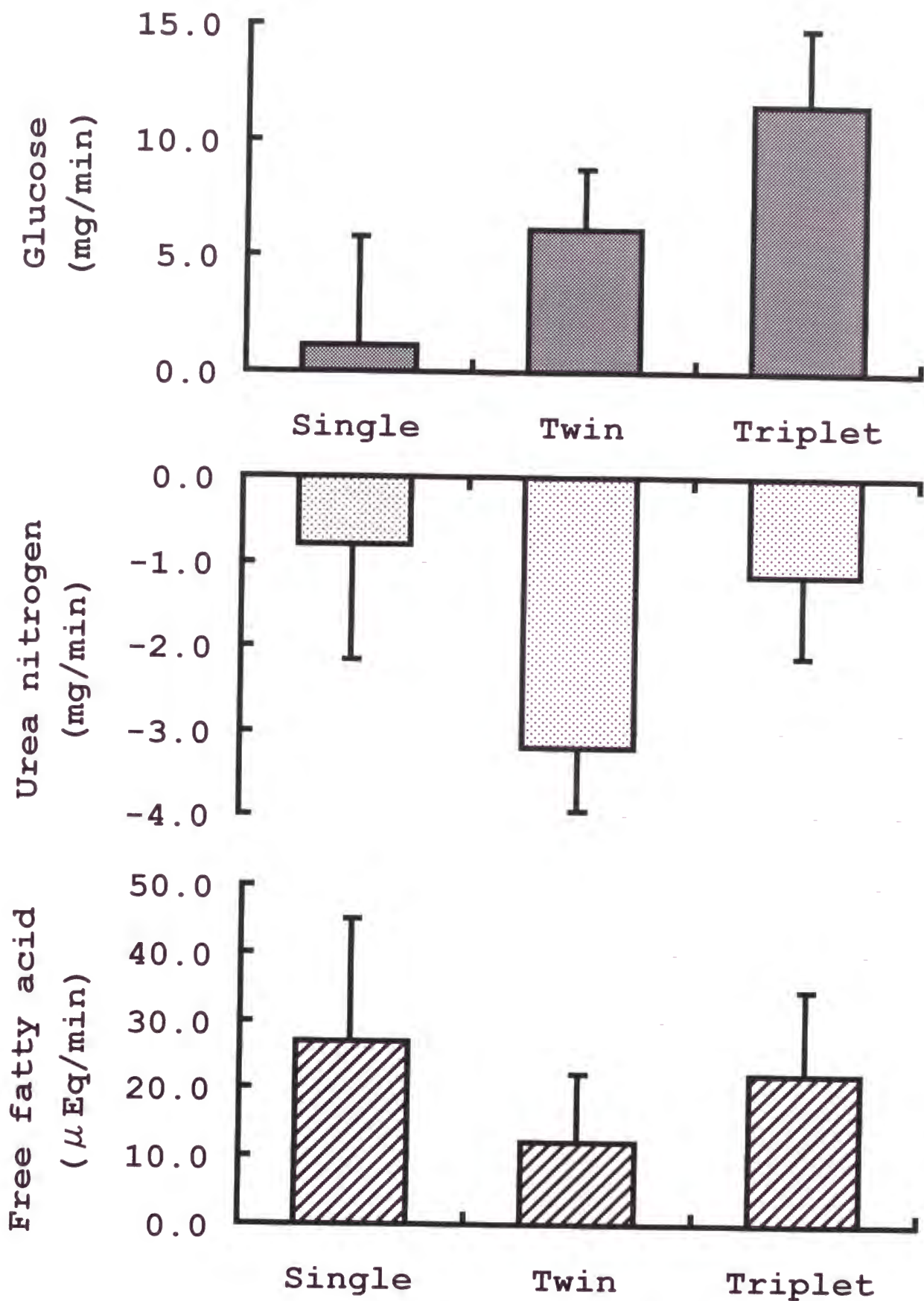


Figure 12. Net nutrient uptake by the gravid uterus at about 120 days of gestation in goats.

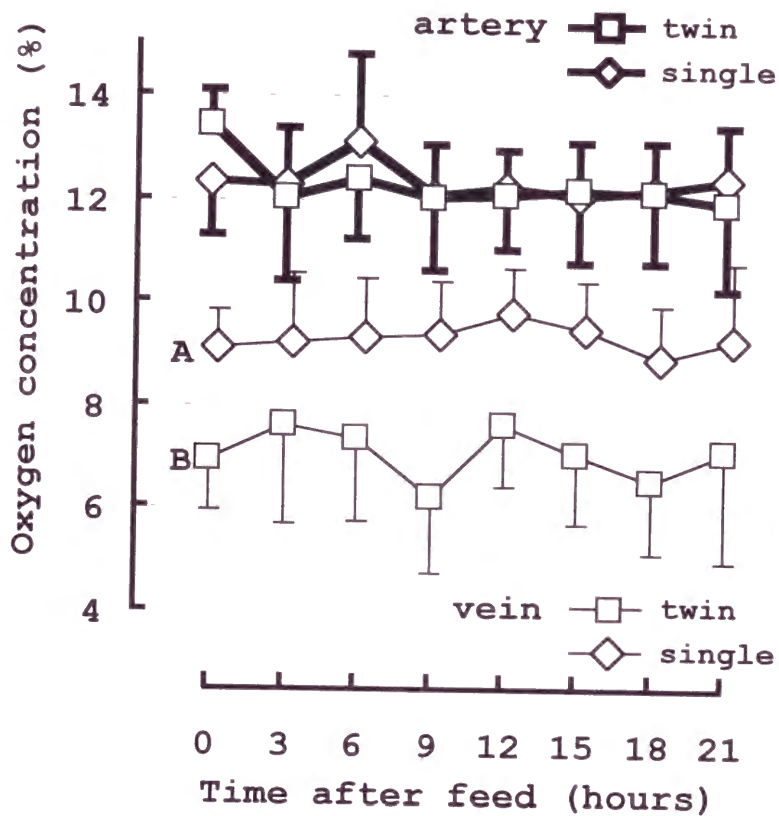


Figure 13. Effect of litter size and time after feed on plasma oxygen concentration in uterine artery and vein of pregnant goats. Values are means \pm standard error (A,B: $P < 0.01$).

Table 10 . Oxygen consumption by gravid uterus and whole body in pregnant goats

O ₂ consumption (l/day)	Single	Twin	SE	Effect ¹⁾
Whole body (A)	364.60	258.30	70.43	
Gravid uterus (B)	36.39	33.98	6.23	
B/A (%)	9.98	13.16	1.86	**

1) Effect of litter size, **: P<0.01.

考察

飼料摂取量と胎子数とは負の関係にある (Orr *et al.*, 1983; Orr and Treacher, 1984; Everts, 1990a)。本研究では、乾物摂取量は多胎妊娠ヤギが最も高かったが、乾物摂取量を体重比で比較すると、単胎 2.35%、双胎 2.11%および多胎 1.94%と、多胎妊娠が最も低くなるため、体の大きさに比べて相対的に摂取量は低かったものと考えられる。

多胎妊娠ヤギは、単胎および双胎妊娠と比較して窒素の糞中および尿中排泄割合が低く、蓄積にまわる比率が高くなっている。また、尿素窒素濃度は多胎妊娠ヤギが最も高かったが、子宮への出納量は胎子数による違いはみられず、いずれも尿素窒素は子宮から排出されていた。血漿尿素窒素濃度は、エネルギーには関係なく、蛋白摂取量が増加するに従って上昇する (Sahlu *et al.*, 1995) ことが知られており、Preston ら (1965) は、摂取蛋白と血漿中尿素窒素濃度との間に強い正の相関関係 ($r=0.99$) を認めている。窒素摂取量の減少によって引き起こされる血中尿素窒素濃度の上昇の程度と、胎子生時体重との間に正の相関関係 ($r=0.87$) が認められたことから、胎子に供給するエネルギーが不足しているときには、母体体蛋白の動員が起きている可能性が示唆されている (Guada *et al.*, 1976)。本研究からは、窒素蓄積効率上昇の機序を明確に示すことはできないが、窒素摂取量増加が血中尿素窒素濃度を上昇させているものと考えられる。

本研究では、多胎妊娠ヤギの中子宮動脈血流量が最も高かったが、胎子 1kg 当たりの中子宮動脈血液流量は、単胎 108.4ml/min、双胎 67.7ml/min および多胎 69.6ml/min と、双胎および多胎妊娠時の方が低かった。胎子の利用する栄養分は、子宮動脈によって供給されるため、このことが、胎子 1 頭当たりの体重が単胎 2.62kg、双胎 2.13kg および多胎 2.08kg と、双胎および多胎妊娠時の方が低い要因となっているものと考えられた。Ferrell and Reynolds (1992) は、肉牛において、中子宮動脈血流量が双胎妊娠牛で 10.4L/min、単胎妊娠牛で 6.65L/min であり、その結果として双胎妊娠牛の胎子の大きさが単胎の 78%にしかないことを報告している。

本研究で得られた中子宮動脈血流量は、antipyrine を指標物質として希釈法によって算出した他の報告 (Hay Jr. *et al.*, 1984a; Wilkening *et al.*, 1985; Owens *et al.*, 1986) と比較して低い値を示した。従来用いられてきたパラアミノ馬尿酸を標識物質とした希釈法による血流量測定と、本研究で用いたトランジットタイム方式超音波血流計とを比較すると、血流量平均値では変わらないが、従来法の方がやや高めの値が得られる可能性が高い (Eisemann *et al.*, 1987) ためではないかと考えられる。

胎子の主となるエネルギー源はグルコースであり (Davis and Johnston, 1971), 胎子へは母体との濃度勾配によって胎盤を通して吸収される (Simmons *et al.*, 1979)。本研究の単胎および双胎妊娠時グルコース濃度は、他のヒツジの報告 (Everts, 1990b) と比較して低い、多胎妊娠時は高かった。Wilson ら (1983) は、双胎妊娠ヒツジの糖新生量が、飼料摂取量が同じの非妊娠ヒツジよりも 42% 高かったことを報告している。絶食条件下では、単胎ヒツジよりも双胎ヒツジのグルコース濃度の方が低くなることが報告されている (Schreiner *et al.*, 1980) が、ヒツジ妊娠末期における ME 摂取量が増加するに従って、血漿中グルコース濃度も上昇することが知られており (Sahlu *et al.*, 1995; O'Doherty and Crosby, 1998), 本研究においても ME 摂取量が多胎妊娠時に最も高かったためグルコース濃度が高かったのではないかと考えられる。

代謝エネルギー摂取量は、単胎 $99.9\text{kcal/kg}^{0.75}$, 双胎 $105.3\text{kcal/kg}^{0.75}$ および多胎 $126.5\text{kcal/kg}^{0.75}$ と、多胎妊娠が最も高くなっているが、熱発生量が有意に高かったためエネルギー出納は大きくマイナスとなった。胎子数増加によって妊娠子宮 (Ferrell and Reynolds, 1992) や肝臓 (Freetly and Ferrell, 1997) の代謝が活発になり、その結果、熱発生量が増加ものと考えられる。単胎妊娠に比較して、多胎妊娠時には遊離脂肪酸濃度が高くなり (Everts, 1990b; Hu *et al.*, 1990), また、胎子のグルコース要求量を満たすことができなくなると、母体の蓄積脂肪を動員するため、血中遊離脂肪酸濃度が上昇することが知られており (Annison *et al.*, 1984), 栄養不良状態ではあるが、それほど深刻でない場合の遊離脂肪酸濃度は $500\sim1200\mu\text{Eq/L}$ であることが示されている (Russel *et al.*,

1967)。Robinson ら (1978) は、屠殺試験によって、妊娠ヒツジの胎子数が増加するに従って、体脂肪蓄積量が減少していたことを観察している。本研究での血中遊離脂肪酸濃度は $900 \mu\text{Eq/L}$ 以下であり、エネルギー出納はマイナスとなっていたが、それほど深刻な体脂肪動員が起きてはいなかったものと考えられる。多胎妊娠時においては、エネルギー出納が他の胎子数と比較して大きくマイナスとなっていたが、遊離脂肪酸濃度の差は観察されなかった。

多胎妊娠ヤギのインスリン濃度は単胎および双胎妊娠ヤギに比較してやや低く、グルカゴン濃度は有意に高かった ($P < 0.01$)。また、インスリン：グルカゴンモル比率は多胎妊娠ヤギが最も低く、インスリンに対するグルカゴンの相対的作用が強くなり、肝臓におけるグリコーゲン分解と糖新生が活発になっているものと推察された。胎子によるグルコースの取込みは、濃度勾配によるものであるが、インスリンによる影響は受けない (Rankin *et al.*, 1986) ため、インスリン濃度の低下は、母体組織のグルコース取り込み量を低下させるものと考えられる。このことと、グルカゴン濃度上昇による糖新生量増大 (佐々木, 1980) によって、多胎妊娠ヤギ血中グルコース濃度および妊娠子宮グルコース正味取込量が最高値を示したものと考えられる。

ヘレフォード牛では、中子宮動-静脈酸素濃度差は妊娠ステージによる影響がほとんどみられず、中子宮動脈血流量の変化が子宮養分正味取込量に大きく関係している (Ferrell and Reynolds, 1985)。1L の酸素の燃焼熱が 5.0kcal とすると (Ferrell and Reynolds, 1985), 妊娠子宮の熱発生量は単胎妊娠で 183.5kcal/day , 双胎妊娠で 171.4kcal/day と計算される。本実験の妊娠子宮酸素消費量の全身に対する比率は、単胎妊娠で 9.98% および双胎妊娠で 13.16% であった。Wilkening (1986) は、分娩前 20 日間の単胎ヒツジの妊娠子宮角と非妊娠子宮角との血流量には違いはみられず ($P > 0.1$), お互い高い相関関係にあった ($r=0.98$) ことを示している。本研究では、妊娠ヤギを用いて、妊娠子宮角側のみの血流量および栄養・酸素濃度を測定しているが、非妊娠子宮角側もほぼ同量の血液が流れているものと仮定して計算を行った。ただ、Molina ら (1990) は、妊娠 74~79 日目の単胎ヒツジ両妊娠子宮角への血流および酸

素取込量の分配は、胎盤重量と比例していることを報告しているため、より正確な妊娠子宮栄養・酸素正味取込量推定のためには、胎子数および子宮角重量による補正が必要であるものと考えられる。

NRC 標準ヤギ版（1981）では、単胎妊娠と双胎妊娠のエネルギー要求量にはほとんど差がないものとし、同じ給与量を推奨している。ヤギは通常双胎妊娠が多いので、多胎（3 つ子）妊娠で初めて体内の養分代謝に影響がでているのではないかと考えられる。ただし、本研究では多胎妊娠においても、エネルギー出納は負になっているが、脂肪動員が著しいわけではなく、グルカゴン濃度の上昇、グルコース子宮取り込み量の増加が観察され、胎子の生時体重にも大きな差はみられないことから、肝臓における糖新生を促進し、グリコーゲンを動員することによって、胎子への供給エネルギーが不足しないように補っているものと考えられた。また、本試験の手法を用いることによって、妊娠子宮の正味養分取込量を測定することが可能となり、精密な養分要求量推定に資するものと考えられる。

第 4 章 妊娠時の飼料摂取量に及ぼす要因の解明

第 1 節 胎子数および妊娠の進行が母牛の妊娠末期における飼料の消化管通過速度に及ぼす影響

第 2 章において、最近急激に増加しつつある黒毛和種の受精卵を移植した単胎および双胎妊娠のホルスタイン種乳牛の、妊娠末期における養分要求量について検討した。その際、妊娠末期において、単胎牛ではほぼ計画給与量を摂取したが、双胎牛では妊娠の進行に従って採食量が減少する例がみられた。消化率は、いずれの妊娠日数においても給与レベルの高い方が低い傾向がみられ、乾物および粗繊維の消化率は、妊娠が進行すると低下する傾向がみられた。

胎子数および妊娠の進行が消化率に及ぼす影響は、いずれも胎子および妊娠子宮等の関連諸器官の増大が伴うため、母体の消化管が圧迫されることによって、飼料の消化管通過速度が変動することが原因のひとつと考えられる。しかし、妊娠牛の消化管内容物の通過速度について検討した例は少ない (Hanks *et al.*, 1993)。そこで、本節では希土類元素を標識として、乳牛における胎子数および妊娠の進行が、飼料固相の消化管通過速度に及ぼす影響について検討した。

材料と方法

供試家畜

黒毛和種受精卵を移植した経産ホルスタイン種雌牛の単胎牛を 5 頭 (平均体重: 542.8 ± 58.3 kg, 平均産次: 3.0 産), 双胎牛を 3 頭 (平均体重: 668.5 ± 109.0 kg, 平均産次: 3.7 産) およびホルスタイン種を妊娠中の経産ホルスタイン種雌牛の単胎牛を 10 頭 (平均体重: 653.7 ± 116.5 kg, 平均産次: 3.4 産) 用いて、乾乳の後、妊娠 190 日から分娩時までを試験期間とする飼養試験を行った。

実験処理

飼料給与量は、日本飼養標準（農林水産省技術会議事務局，1987a, 1987b）に従って、妊娠 190 日目の体重を基準として算出した。なお、試験期間中の給与量は一定とし、体重の増加に伴う増給は行わなかった。単胎牛に対しては、TDN でホルスタイン種の維持要求量のみ（SP0 区, n=6）、および維持要求量に黒毛和種またはホルスタイン種の胎子 1 頭増給分（SP1 区, n=9）を満たすものとした。双胎牛に対しては、維持要求量に黒毛和種の胎子 2 頭増給分を加えた量（TP2 区, n=3）を満たすものとした。粗飼料は、イタリアンライグラス 2 番草の乾草ウエハーまたはサイレージを用い、濃厚飼料は配合飼料とした。これらを、粗飼料と濃厚飼料の比率が 9:1, 7:3 または 5:5 となるように混合し、2 回に分けて給与した。水および固形塩は全試験期間を通じて自由に摂取できるようにした。

試料採取および分析方法

供試牛は、妊娠 210 日および 266 日目に標識飼料を給与し、部分糞を経時的に採取して飼料固相の消化管通過速度を測定した。なお、妊娠 190 日の時点で乾乳が終了していなかった単胎牛 2 頭（SP0;n=1, SP1;n=1）については、266 日目のみの測定とした。Shaver ら（1986）の方法に従って、塩化イッテルビウム・6 水和物（ $\text{YbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ）6.25g（Yb として 0.84g）を 100ml の蒸留水に溶解し、その溶液 30ml を乾草またはサイレージ 500g に噴霧した。標識した飼料は、試験開始日の午前 9 時に各供試牛に給与した。15 分後に標識飼料の残食を除去し、残りの朝の給与量を採食させた。直腸糞の採取は、標識飼料給与時を 0 時として、以後 4, 8, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 84, 96 および 120 時間目に行った。

採取した糞は 60℃で 48 時間通風乾燥後、1mm スクリーンを装着した Wiley Mill で粉砕したものを分析試料とした。イッテルビウム（Yb）の測定は、試料を 0.5M エチレンジアミン 4 酢酸ナトリウム（EDTA）溶液中で 30 分間抽出し、3000rpm で 15 分間遠心分離した後の上澄を原子吸光光度計（機種：日立

製作所社製、Z-8000 型) で分析した。

通過速度計算方法

通過速度定数は、糞中に排泄された Yb 濃度を、Grofum と Williams (1973) の two compartment model に当てはめて計算した。

$$t \geq TT \text{ の時, } Y = A e^{-k_1 (t-TT)} - A e^{-k_2 (t-TT)}$$

$$t < TT \text{ の時, } Y = 0$$

(Y : 糞中希土類元素濃度, A : $Y_0 \times k_1 \div (k_2 - k_1)$ ただし, Y_0 はマーカ投入時の反芻胃内マーカ含量とする, k_1 : 反芻胃通過速度定数, k_2 : 下部消化管通過速度定数, t : マーカ投入後の経過時間, TT : マーカの初期出現時間)

全消化管平均滞留時間 (TMRT) は, $TMRT = T_1 + T_2 + TT$ の式より算出した。

(T_1 : $1/k_1$ =反芻胃滞留時間, T_2 : $1/k_2$ =下部消化管滞留時間)

統計解析

胎子数および給与水準の影響を検討するために、妊娠日数ごとに胎子数および給与水準を処理因子とした、一元配置法による分散分析を行った。また、同様に妊娠日数による影響を検討するために、個体をブロックとして、胎子数および給与水準ごとに妊娠日数を処理因子とした、一元配置法による分散分析を行った。ただし、粗飼料および濃厚飼料の配合割合は、例数が少ないため処理因子に含めずに解析を行った。その後、有意差の認められた測定項目については、Tukey の方法 (吉田, 1989) により処理間の有意差を検定した。また、妊娠日数をブロックとし、乾物摂取量 (DMI) を補助変数として、胎子の総体重と TMRT の共分散を行った。統計解析は、全て SAS の GLM プロシジャ (SAS, 1988) を用いて行った。

結果

妊娠末期 3 カ月間において、双胎牛では妊娠の進行に従って採食量が減少する例がみられたが、単胎牛ではほぼ計画給与量を摂取した。子牛 1 頭当りの分

娩時体重は単胎牛の SP0 区で $40.4 \pm 5.8\text{kg}$ および SP1 区で $39.5 \pm 5.2\text{kg}$ であり、
双胎牛では 2 頭合わせて TP2 区で $60.9 \pm 16.9\text{kg}$ であった。

Table 11 には、妊娠 210 日および 266 日目それぞれにおける胎子数および給
与水準ごとに、飼料の DMI、通過速度および消化管滞留時間を示した。DMI
は、妊娠 210 および 266 日目ともに SP0 区が最も低く、TP2 区が最も高かつ
た。

飼料給与量および胎子数の影響

妊娠 210 日目では、母牛の維持量分のみ給与の SP0 区が、他の区と比較し
て反芻胃通過速度定数 (k_1) が遅く、初期出現時間 (TT) も長かった ($P < 0.01$)
ため、全消化管平均滞留時間 (TMRT) が最も長くなる傾向がみられた。SP1
区は、SP0 区と比較して k_1 および下部消化管通過速度定数 (k_2) が速く、TT
および TMRT が短かった。TP2 区では、TMRT が SP0 区よりも短く、SP1 区
の値よりも長かった。

妊娠 266 日目では、SP0 区が、SP1 区と比較して k_1 が遅く、TT が長かった
ため、210 日目と同様に、TMRT が最も長くなった。TP2 区では、他の区と
比較して k_2 は最も遅かったが、TT は最も短かった。また、TMRT は SP0 よ
りも短く、SP1 よりも長かった。

妊娠日数の影響

SP0 区では、 k_1 には違いはみられなかったが、妊娠 266 日目に k_2 は速く、
TT および TMRT はやや短くなる傾向がみられた。SP1 区は、 k_1 および k_2 は
速くなり、TT および TMRT は妊娠の進行に従って短くなる傾向がみられた。
TP2 区においては、DMI が妊娠 210 日目に比べて 266 日目に減少した。飼料
の通過速度は、 k_2 がやや速くなる傾向がみられたが、その他の項目にはほと
んど差はみられなかった。

Figure 14 には、DMI と TMRT の関係を単胎牛および双胎牛それぞれで示し
た。その結果、単胎牛で $\text{TMRT} = -6.915 \times \text{DMI} + 128.64$ ($R^2 = 0.489, P < 0.01$),

Table 11. Rate of passage of forages in digestive tract with single or twin pregnant cows

Days of gestation	210				266			
Treatment	SP0	SP1	TP2	S.E.*	SP0	SP1	TP2	S.E.*
n (head)	5	8	3		6	9	3	
DMI (kg/day)	6.53 ^{Aa}	8.53 ^b	10.07 ^B	0.67	6.27 ^a	8.18 ^{ab}	9.11 ^b	0.83
k1 (%/hour)	2.9	3.6	3.2	1.3	2.9	4.5	2.9	1.3
k2 (%/hour)	5.4	6.7	5.3	1.7	8.9	8.9	7.0	3.2
TT (hour)	17.0 ^a	12.6 ^b	11.6 ^b	1.6	14.8	12.0	11.7	2.4
TMRT (hour)	79.9	61.0	68.1	9.4	72.8	53.0	65.9	9.7

(Least square means, S.E.;Standard Error, a,b; P<0.05, A,B; P<0.01)

*: Corrected by harmonic mean of the number of cows in each treatment.

k1: rate of ruminal passage, k2: rate of post-ruminal passage, TT: transit time (the time from dose until first appearance of marker in feces), TMRT: total mean retention time of digestive tract.

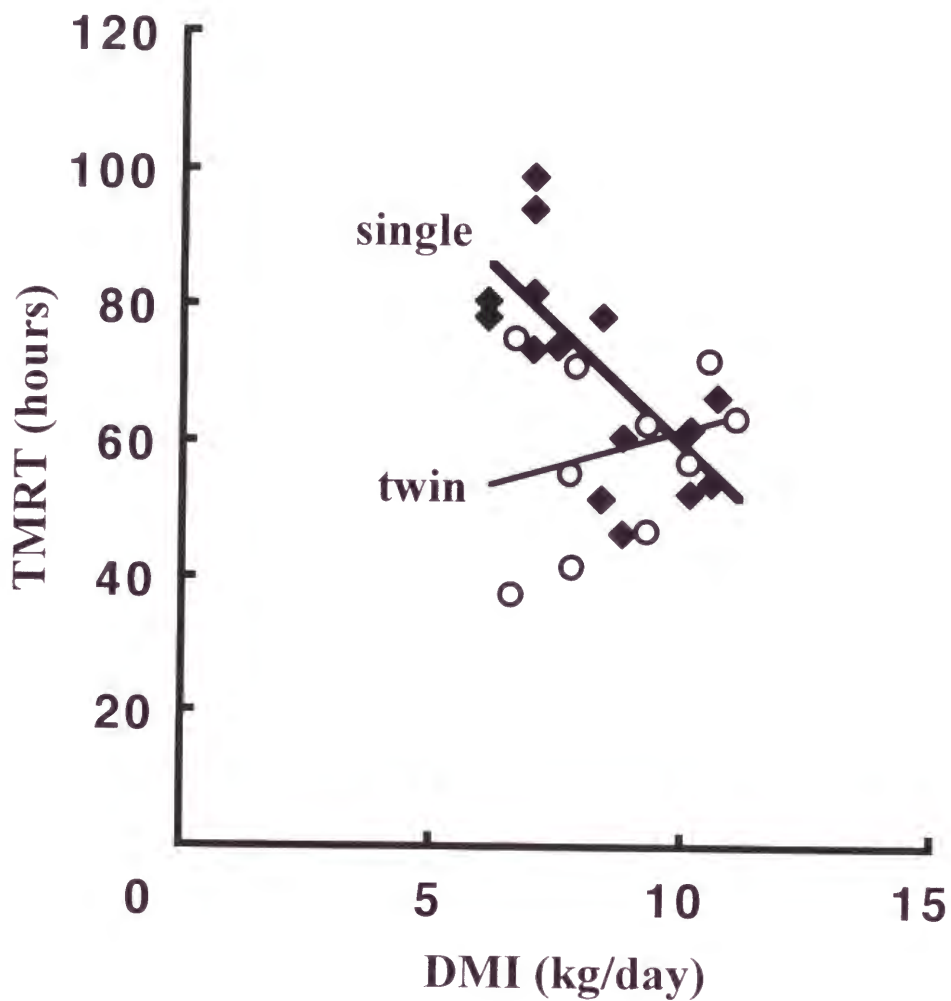


Figure 14. The relationship between TMRT and DM intake in twin-bearing (○) and single bearing (◆) cattle. The regression equations are shown (twin; $Y = 2.099X + 40.75$, single; $Y = -6.915X + 128.6$).

双胎牛で $TMRT=2.099 \times DMI + 40.75$ ($R^2=0.063$) の関係式を得た。単胎牛では、回帰直線の傾きが有意に負となり、DMI が増加するに従って飼料の消化管通過速度が上昇する関係が観察された。双胎牛は個体差が大きく、はっきりした傾向はみられなかった。Figure には示さなかったが、消化管部位別の滞留時間と DMI との関係は、単胎牛では、有意ではなかったが、ルーメン内滞留時間 ($1/k_1, h$) および TT が DMI と負の関係にあった。双胎牛では、消化管部位別には特にはっきりとした傾向は観察されなかった。

Figure 15 には、子牛の生時体重の総合計 (kg, BWC) と TMRT の関係を各処理ごとに示した。共分散分析法によって、妊娠日数をブロックとして DMI と BWC の関係を解析した結果、以下の関係式が得られた。

$$SP0; TMRT = -1.856 \times BWC - 0.014 \times DMI + 238.45 \quad (R^2=0.294)$$

$$SP1; TMRT = -1.359 \times BWC + 0.001 \times DMI + 100.01 \quad (R^2=0.202)$$

$$TP2; TMRT = -1.053 \times BWC - 0.007 \times DMI + 200.53 \quad (R^2=0.621)$$

Figure 15 には、各処理ごとの DMI の平均値を代入して、BWC と TMRT との関係式を示した。いずれも有意ではなかったが、傾きは負となり、胎子が大きいほど飼料の消化管通過速度が上昇する傾向がみられた。

考察

双胎牛では妊娠の進行に従って採食量が減少する例がみられた。Forbes (1968, 1969) は、分娩直前には増大する妊娠子宮によりルーメンが圧迫され、採食量が著しく減少すると報告している。また、Lenkeit ら (1966b) は、分娩前 6 週間の採食量の減少と子牛の生時体重との間に有意な関係があることを示した。本試験においても、有意ではなかったが、同様の傾向が推測された (Figure 15)。子牛 1 頭当りの分娩時体重は単胎の方が大きかったが、双胎牛では 2 頭で平均 61kg となり単胎牛の 40kg と比較して大きく、消化管が著しく圧迫されているものと予想された。

本試験では、妊娠 210 および 266 日目のいずれにおいても母牛の維持量に胎子 1 頭分増給した SP1 区の方が、母牛の維持量のみ給与の SP0 区と比較して

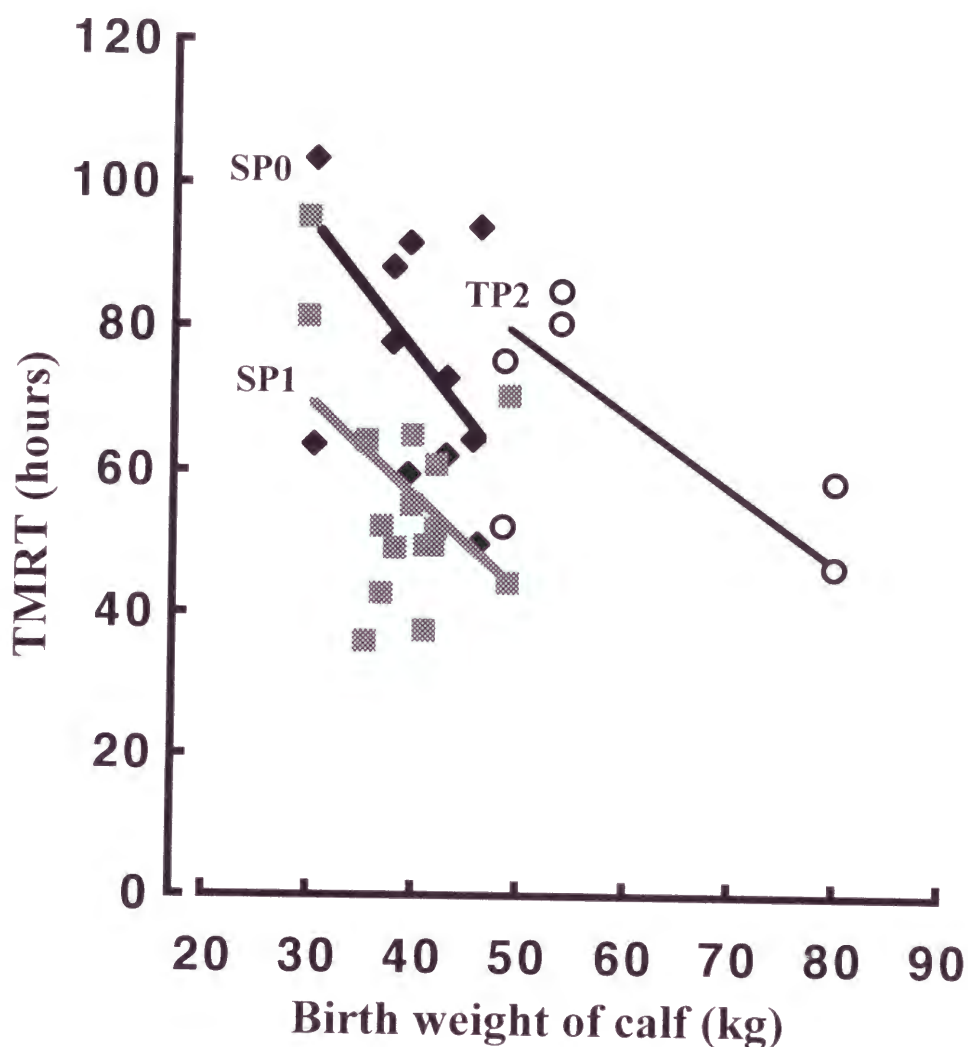


Figure 15. The relationship between TMRT and size of fetus in twin-bearing (TP2; ○) and single-bearing (SP0; ◆, SP1 ■) cattle. The regression equations are shown (TP2; $Y = -1.053X + 133.4$, SP0; $Y = -1.856X + 149.0$ and SP1; $Y = -1.359X + 108.4$).

飼料の通過速度が速く、また SP0 および SP1 両区ともに妊娠の進行によって通過速度がやや上昇する傾向がみられた。妊娠牛では、給与水準が高いほど、または同一の給与水準であれば妊娠の進行している方が飼料の消化管通過速度が大きく (Faichney and White, 1988), 消化率が低くなるといわれている (Graham and Williams, 1962)。Shaver ら (1986) は、泌乳牛に乾物で体重の 3.75, 2.93 または 1.95% の 3 通りの量の飼料を給与し、消化率、ルーメン内滞留時間および TMRT と DMI との間に有意な負の相関を認めており、DMI の増加に伴う飼料の消化管滞留時間の短縮が、消化率低下の要因として考えられることを示している。本試験の単胎牛の結果は、このことを支持するものと考えられる (Figure 14)。Blaxter (1967) は、給与水準が低いほど飼料の消化管通過速度が低下し、ルーメン内での微生物による消化が充分に行われることによって消化率が上昇すると説明している。しかし双胎牛の場合は、TP2 区における消化率が低かった (第 2 章) ことから、飼料摂取量の増加および妊娠子宮による消化管の圧迫によって、消化管内の飼料の通加速度が上昇し、消化率の低下が起きたものと考えられたが、TP2 区では 210 日と 266 日の間で、飼料の消化管内滞留時間にはほとんど差はみられなかった。これは、DMI が 10.07kg/day から 9.11kg/day と減少したため、消化管の圧迫による通過速度の上昇が抑制されたためではないかと考えられる。また、TP2 区では、妊娠 210 日目および 266 日目のいずれにおいても、SP0 および SP1 区に比べて乾物摂取量は多かったが、消化管通過速度はほぼ SP0 区と SP1 区との中間の値であった。

本試験の双胎牛では、妊娠の進行によって乾物摂取量が大きく減少しており、消化率も低下していたが、消化管通過速度にははっきりした傾向はみられなかった。Johnson and Combs (1991) は、ルーメンカニューレを装着した泌乳牛に、分娩前 10 週時におけるルーメン容積の 25% の大きさの水を入れた袋を挿入し、ルーメンの容積を人為的に減少させた結果、DMI が減少し、内容物の通過速度が上昇することを観察している。しかし、Faichney and White (1988) は、妊娠ヒツジの飼料の消化管通過速度に及ぼす影響が、妊娠子宮の重量よりも妊娠日数の方が大きいことから、妊娠子宮の増大による消化管の圧迫による

物理的な刺激に対する反応のみではなく、ホルモンによるルーメン運動の調節も行われている可能性を示唆している。双胎牛では、ホルモンの分泌動態が単胎牛とは異なるものと考えられるため (Lungu and Palmer, 1986; Refsal *et al.*, 1991), 飼料の消化管通過速度に関しては、胎子 2 頭分の物理的な圧迫のみではなく、内分泌要因についても検討の必要があるものと思われる。

以上の結果から、単胎牛では、飼料の増給および妊娠の進行による飼料の消化管通過速度の上昇が観察され、妊娠末期における消化率の低下の要因のひとつである可能性が示唆された。双胎牛では、妊娠の進行による消化管通過速度に対するはっきりとした傾向はみられなかったが、乾物摂取量の減少が観察されたため、消化管通過速度の上昇が抑制されのではないかと考えられる。

第 2 節 飼料の粗濃比が妊娠末期の乾乳牛の乾物摂取量に及ぼす影響

乳牛の代謝および繁殖障害を最低限に抑えるためには、分娩前の乾乳期における飼養法の重要性が以下のように指摘されている。すなわち、分娩前の乾物摂取量 (DMI) が低いと、分娩後の代謝病が増加する傾向がある (Bertics *et al.*, 1992) が、分娩前 3 週間にエネルギーおよび蛋白質摂取量を高めると、ケトosis が減少する (Curtis *et al.*, 1985) ことが示されている。また、乾乳牛では、妊娠末期には胎子の発育と泌乳の準備のため、養分要求量は乾乳期間中最大となる (Bell, 1995) が、DMI は減少する (Forbes, 1995) ことが知られており、分娩前 3 週間に養分要求量を満たすだけの飼料摂取が困難であるともいわれている。双胎妊娠牛においても、前節に示したように、妊娠子宮の増大による圧迫によって消化管容積が減少し、飼料摂取量が減少するおそれがある。

しかし、乾乳牛の管理にはあまり注意が払われておらず、一般に低品質の粗飼料多給の状態で分娩まで飼養されている例がしばしばみられている。わが国において、乾乳牛の飼料 DMI について検討した研究報告は少なく (板東ら, 1991), 日本飼養標準 (1994) にも妊娠牛の DMI は明記されていない。そこで本節では、粗濃比の異なる飼料を妊娠末期の乳牛に給与し、DMI に及ぼす影響について検討した。

材料と方法

供試家畜

経産ホルスタイン種乾乳牛 8 頭 (体重: 672.1 ± 95.1 kg, 産次: 4.1 ± 1.7 産) を用いて、乾乳の後、分娩予定 13 週前から分娩時までを試験期間とする飼養試験を行った。

供試飼料

粗飼料として、イタリアンライグラス 1 番草の乾草ウエハーを、濃厚飼料

として農林水産省畜産試験場指定配合飼料（Table 12）を用いた。粗飼料と濃厚飼料の比率が 9:1 となるように配合して給与する区（H 区）および 5:5 となる区（C 区）を設定した。飼料中の一般成分は、Table 12 に示した。各試験区には供試牛を無作為に 4 頭ずつ割り当てた。

飼養管理

飼料給与量は、乳牛版日本飼養標準（農林水産省技術会議事務局, 1987b）に従って、分娩予定 13 週前の体重を基準として算出した。なお、試験期間中の給与量は一定とし、体重の増加に伴う増給は行わなかった。試験飼料の給与は分娩予定 11 週前から行い、可消化養分総量（TDN）でホルスタイン種の維持要求量にホルスタイン種の胎子 1 頭増給分を満たすものとした。供試飼料は 1 日分の給与量を、8:30 および 16:30 の 2 回に分けて給与した。水および固形塩は全試験期間を通じて自由に摂取できるようにした。

測定項目

体重は、毎週朝の飼料給与 3 時間後に測定した。母牛の分娩後体重は、分娩翌日から 2 日間測定した平均値とした。残飼は、朝の飼料給与前に前日 1 日分をまとめて採取し、70℃で 16 時間乾燥して DMI を求めた。

飼料分析

供試飼料の一般成分は、常法（森本, 1971）により測定した。飼料の総エネルギー含量は、60℃で 48 時間通風乾燥後、燃研式熱量計（島津 CA-3 型）を用いて測定した。TDN 値は、日本標準飼料成分表（農林水産省技術会議事務局, 1995b）を参照し、最も類似した飼料の値を採用した。

統計解析

粗飼料および濃厚飼料の配合割合の影響を検討するために、妊娠週次ごとに粗濃比を処理因子とした、一元配置法による分散分析を行った。統計解析は、

Table 12. Chemical composition of hay and concentrate

	DM (%)	CP	EE (% of DM)	NDF	CA	GE (Mcal/kg DM)
Italian ryegrass	88.9	11.5	3.2	55.3	9.9	4.88
Concentrate*	89.0	16.5	2.5	18.8	6.2	4.77

DM: Dry matter, CP: Crude protein, EE: Ether extracts, NDF: Neutral detergent fiber, CA: Crude ash, GE: Gross energy.

*; Ingredients (DM%): corn 30%, barley 25%, wheat bran 9%, defatted rice bran 7%, soybean meal 12%, molasses 3.7%, alfalfa meal 7%, beat pulp 5%, CaCO₃ 1.3%.

全て SAS の GLM プロシジャー (SAS, 1988) を用いて行った。

結果

Table 13 には、分娩前 9 週間の飼養試験成績を示した。なお、H 区に割り当てた供試牛 1 頭は、妊娠 8 週前に残飼が著しく増加したため、実験を中止した。子牛の生時体重には違いはみられなかった。母牛と胎子をあわせた妊娠牛全体の増体量、および分娩直後の体重から試験開始時の体重を差し引いて求めた、母牛のみの増体量はいずれも C 区の方が高い傾向にあり、H 区では母体はほとんど増体しなかった。乾物給与量および DMI の平均値は、H 区の方が C 区よりも有意に高かった ($P < 0.05$) が、TDN および粗蛋白摂取量には差はなかった。中性デタージェント繊維 (NDF) 摂取量は、H 区の方が C 区よりも有意に高かった ($P < 0.01$)。

Table 14 には、分娩前 9 週間の飼料の DMI の変化を平均値で示した。H 区では、妊娠 5 週間までは残飼はみられず、給与量の 100% を摂取したが、妊娠 4 週間から分娩が近づくにしたがって残飼が増加し、DMI が低下した。C 区では、全頭が給与飼料を全量採食した。特に、分娩 1 週間には DMI の割合が低くなる傾向が認められた ($P < 0.10$)。

Figure 16 には、試験開始時体重と試験期間中の増体量の関係を示した。母牛のみ、および妊娠牛全体ともに試験開始時体重が大きいほど体重減少の程度が大きく、特に母牛のみの体重減少の程度が大きかった。

考察

本試験の H 区では、DMI が分娩 2 週前で 6.8%，および 7 日目で 11.4% 減少した。乳牛では分娩前 1～2 週間に、DMI が 10～30% 減少することが観察されており (Zamet *et al.*, 1979; Bertics *et al.*, 1992)，Forbes (1968, 1969) は、分娩直前の反芻家畜では、増大する妊娠子宮によりルーメンが圧迫され、DMI が著しく減少すると報告している。Lenkeit ら (1966a) は、分娩前 6 週間の DMI の減少と子牛の生時体重との間に有意な正の相関があることを示した。有意で

Table 13. Results of feeding trials in dry cows fed the diet with hay to concentrate ratio 9:1 (H) and 5:5 (C) during last 9 weeks of gestation

Items	Feed	H		C		Treatment effect ¹
		LSMeans	SE	LSMeans	SE	
Number of cows		3		4		
Parity		5.3	0.9	3.8	0.8	
Gestation Length	(days)	285.3	3.2	284.3	2.7	
Live weight	(kg)	711.3	60.1	639.6	52.1	
Birthweight of calf	(kg)	44.2	4.0	42.9	3.4	
Live weight gain						
	Dam+Fetus (kg/day)	1.10	0.24	1.34	0.21	
	Dam (kg/day)	-0.06	0.45	0.06	0.39	
DM offered	(kg/day)	12.02	0.45	10.08	0.39	*
DM intake	(kg/day)	11.72	0.39	10.08	0.34	*
TDN intake ²	(kg/day)	6.61	0.23	6.70	0.20	
CP intake	(kg/day)	1.41	0.05	1.41	0.04	
NDF intake	(kg/day)	6.04	0.18	3.73	0.16	**

SE: standard error.

1: Significant differences between H and C are shown with * (P<0.05) and ** (P<0.01).

2: TDN is estimated by the table value.

Table 14. Change of DMI in dairy cows fed the diet with hay to concentrate ratio 9:1 (H) and 5:5 (C) during last 9 weeks of gestation

Treatment Week to calving	DMI (kg/day)				Treatment F value Effect	
	H Means	S.E.	C Means	S.E.		
9	12.024	0.452	10.075	0.391	*	0.022
8	12.024	0.452	10.075	0.391	*	0.022
7	12.024	0.452	10.075	0.391	*	0.022
6	12.024	0.452	10.075	0.391	*	0.022
5	12.024	0.452	10.075	0.391	*	0.022
4	11.796	0.384	10.075	0.391	*	0.020
3	11.957	0.428	10.075	0.391	*	0.021
2	11.262	0.368	10.075	0.391	+	0.059
1	10.737	0.363	10.075	0.391		0.226

Difference of DMI between H and C are shown with * ($P<0.05$) and with + ($P<0.10$), respectively.

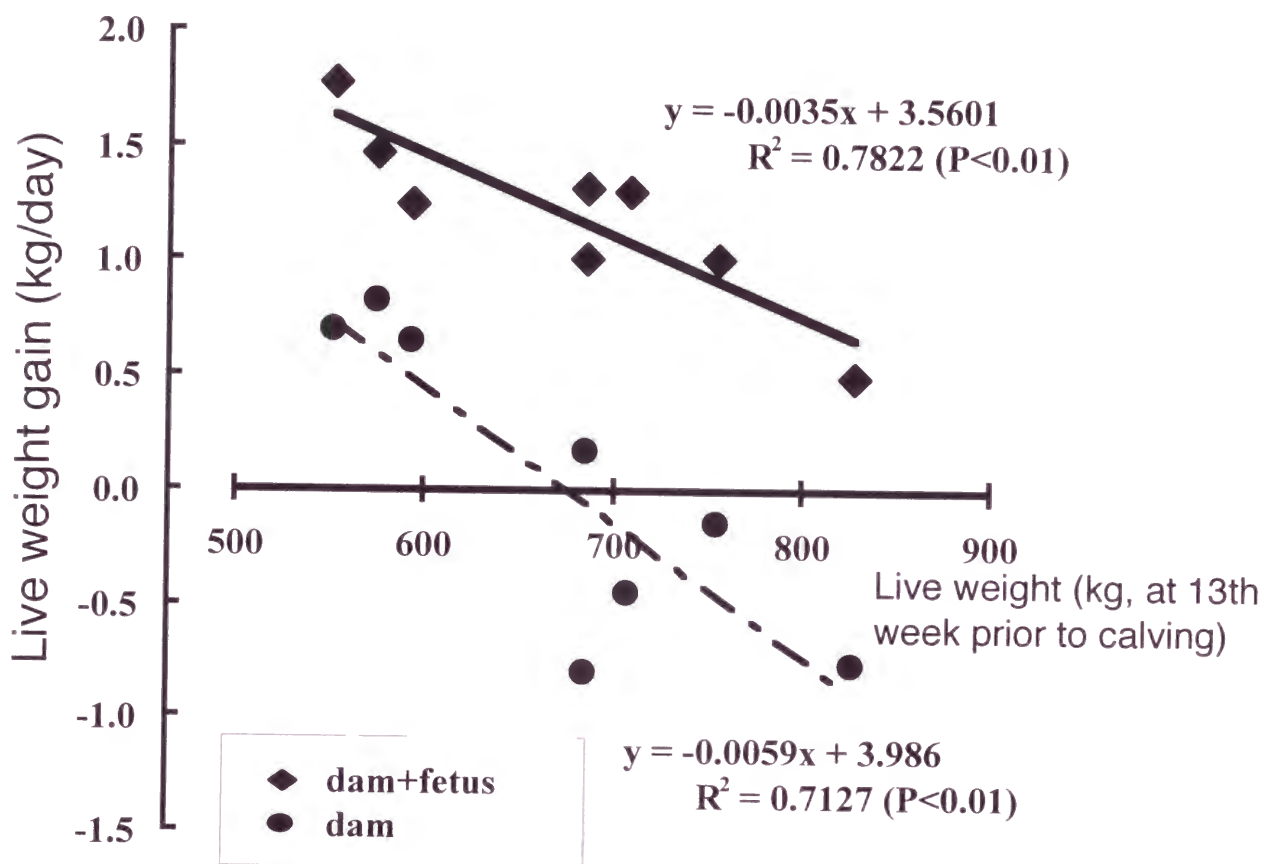


Figure 16. Relationship between the liveweight at 13th week prior to calving and the liveweight gain during last 9 weeks of pregnancy in dry cows.

はなかったが、第3章第1節で同様の関係を認めた。本試験では、子牛の出生時の平均体重はH区で44.2kg およびC区で42.9kg となり、ほとんど差はみられず、両区のDMIに及ぼす子牛の大きさによる影響はなかったものと考えられた。

試験開始時体重と増体量の関係 (Figure 16) は、母牛のみおよび妊娠牛全体ともに試験開始時体重が大きいほど体重減少の程度が大きく、特に母体の体重減少の程度が大きいことから、乾乳初期に体重が大きい場合には、ボディコンディションと乾物摂取量の低下に注意する必要があるものと考えられる。Hayirli ら (1998) は、299 頭の妊娠牛から得られたデータを用いて、乾乳期ボディコンディション別の乾物摂取量予測式を求め、ボディコンディションスコアが4以上の太った妊娠牛の方が、妊娠の進行に伴う乾物摂取量低下の程度が大きいことを報告している。また、経産牛の中には乾乳期体重が800kgを越える例がみられるようになってきている (生田ら, 1998a) ため、ボディコンディションと乾物摂取量の低下によりいっそう注意する必要がある。

給与飼料中のNDFの含量は、H区51.7%、C区37.1%となり、乾乳時に推奨されている飼料のNDF含量の35% (NRC, 1989) と比較して、C区ではほぼ同等であり、H区ではかなり高い値であった。また、NDF摂取量もH区6.04kg、C区3.73kgと、H区の方が著しく高かった。飼料中のNDF含量とDMIの間には、負の相関関係があることが示されている (NRC, 1989)。粗飼料は、濃厚飼料に比べて一般的に繊維含量が高い傾向にあり、このことがDMI低下の一因となっていると考えられる。そのため、特に分娩前3週間においては、良質の粗飼料を給与する必要があるものといえる。

本試験における給与飼料中のTDN含量の設計値は、乾物中H区で56.3%およびC区で66.5%であった。また、Table 13 から、DMIはH区の方がC区よりも有意に ($P<0.05$) 高かったが、TDN摂取量には差がみられなかった。物理的要因等でDMIが低下しやすい分娩前には、要求量を満たすためには濃厚飼料の比率を高くして、エネルギー含量を増加させ、飼料の容積を減少させる必要のあることが示された。そこで、本試験のH区におけるDMIを、分娩前

各週における限界乾物摂取量とすると、TDN 要求量（H 区平均 6.8kg）を満たす飼料の濃度は、分娩 5 週前までは 56.3%であり、分娩 4 週前で 57.4%、3 週前で 56.6%、2 週前で 60.1%および 1 週前で 63.1%となった。また、C 区の飼料は TDN 含量が 66.5%であり、試験期間中は残飼がみられなかった。

以上の結果から、仮に、本試験の H 区における DMI を、分娩前各週における限界乾物摂取量とすると、分娩前 4 週間における乾乳牛のエネルギー要求量を満たす TDN 含量は 63.1%と計算される。したがって、本試験の H 区に類似した飼料条件のもとでは、分娩 4 週前から養分要求量を満たすだけの DMI が得られず、エネルギー不足に陥るおそれがあることが明らかになった。乾乳期に DMI が低い場合は、分娩後に代謝障害を引き起こしやすくなる（Lean *et al.*, 1994）ため、DMI の減少分を補うために、栄養濃度の高い飼料を給与する必要がある。ただし、乾乳期にエネルギー摂取過多によって体脂肪を増加させると、分娩後に代謝障害を引き起こしやすくなる（Fronk *et al.*, 1980）ため、エネルギー含量の高い飼料の給与には注意が必要であると思われる。そのため、乾乳期における給与飼料の最適な栄養濃度についての詳細な検討が今後必要である。

第 5 章 総合考察

第 1 節 妊娠末期エネルギー要求量の算出（母牛：ホルスタイン種， 胎子：黒毛和種）

本論文第 2 章の結果から，ホルスタイン種妊娠末期に維持に加える養分量について検討を加えた。妊娠末期 9 週間に胎子に蓄積される養分量を妊娠に要する養分量とし，これを分娩前 9 週間に平均的に給与するものとする。1994 年版の飼養標準では 60 日間に平均的に給与するようになっているが，この場合，乾乳期の前半が養分過剰，後半が不足となる。そこで，すべての成分について，分娩前 9 週～4 週までは要求量の 90%，分娩前 3 週～分娩までは要求量の 120% とする。また，要求量計算のための基礎数値は，黒毛和種単子生時体重を 30kg，妊娠期間を 285 日（秋田県他 15 府県畜産試験場，農林水産省畜産試験場および全国和牛登録協会の計 9613 頭のデータ）とした。また，黒毛和種双子は生時体重 48kg，妊娠期間 279 日（秋田県他 15 府県畜産試験場，農林水産省畜産試験場および全国和牛登録協会の計 1708 頭のデータ）とした。

（1）ホルスタイン種成雌牛の維持に要する養分量（農林水産省 技術会議事務局, 1994）

乾乳牛を用いたエネルギー出納試験の結果（橋爪ら，1964b）から，5-1 式によって ME 要求量を求めることができる。

$$\text{ME (kcal/day)} = 116.3 \times W^{0.75} \text{-----5-1}$$

W：母牛体重（kg）

可消化エネルギー（DE）および可消化養分総量（TDN）要求量の算出には，DE の ME への換算係数を 0.82，TDN1kg は 4.41Mcal の DE に相当するものとした（農林水産省技術会議事務局, 1994）。

$$\text{DE} = \text{ME} \div 0.82 \text{-----5-2}$$

$$\text{TDN}=\text{DE} \div 4.41\text{-----}5-3$$

(2) 妊娠末期に維持に加える養分量

妊娠 t 日目におけるエネルギー蓄積量 (kcal) は、第 2 章で求めた以下の 5-4 式で表せることから、5-5, 6 式が得られる。

$$E_{(t)}=A \times t^{5.45601}\text{-----}5-4$$

A:子牛生時体重で補正した定数

$$\text{単胎牛: } E_{(t)}=1.542 \times 10^{-9} \times t^{5.45601}\text{-----}5-5$$

$$\text{双胎牛: } E_{(t)}=2.712 \times 10^{-9} \times t^{5.45601}\text{-----}5-6$$

分娩時における $E_{(t)}$ から分娩 9 週前における $E_{(t)}$ を差し引いて求めた、分娩前 9 週間における胎子へのエネルギー蓄積量を 9 週間 (63 日) で平均して、1 日あたり胎子に必要な ME 量を算出する。ME 利用効率を第 2 章で求めた 12.3% とすると、以下の 5-7~10 式から妊娠時の ME 増給量が得られる。

分娩前 9 週~4 週までの ME

$$\text{単胎牛: ME (kcal/day)} = (E_{(285)}-E_{(222)}) \div 63 \div 0.123 \times 0.9\text{-----}5-7$$

$$\text{双胎牛: ME (kcal/day)} = (E_{(279)}-E_{(216)}) \div 63 \div 0.123 \times 0.9\text{-----}5-8$$

分娩前 3 週~分娩までの MERC

$$\text{単胎牛: ME (kcal/day)} = (E_{(285)}-E_{(222)}) \div 63 \div 0.123 \times 1.2\text{-----}5-9$$

$$\text{双胎牛: ME (kcal/day)} = (E_{(279)}-E_{(216)}) \div 63 \div 0.123 \times 1.2\text{-----}5-10$$

Table 15 に黒毛和種を単胎または双胎妊娠した乳用種の分娩前 9 週間に維持に加える養分量を示した。

Table 15. Additional daily nutrient requirements for pregnant Holstein cows with Japanese Black fetuses during last 9 weeks of gestation

Number of fetus	TDN (kg/day)	DE (Mcal/day)	ME (Mcal/day)
(9~4 weeks before calving)			
Single	0.91	4.02	3.30
Twin	1.44	6.37	5.22
(Last 3 weeks of gestation)			
Single	1.22	5.36	4.40
Twin	1.93	8.49	6.96

1) TDN; Total Digestible Nutrients, DE; Digestible Energy, ME; Metabolizable Energy.

2) Live weight of newborn calves are assumed 30kg for single and 48kg for twin calves.

第2節 単胎および双胎妊娠時の飼養管理技術について

本研究では、第2章において双胎妊娠牛の妊娠末期における養分要求量を求めた。第3章では、第1節において低栄養が妊娠牛の内分泌状態および血中代謝産物濃度に及ぼす影響について、第2節においては低栄養および胎子数がヤギ妊娠子宮養分出納に及ぼす影響について検討した。第4章第1節において妊娠末期における採食量および消化率低下の要因を解明し、第2節において、その対策としての妊娠末期における給与飼料の最適エネルギー濃度について検討した。

(1) 乾乳期について

泌乳牛では、分娩後の最大飼料摂取到達日が最大泌乳到達日より遅れるので、エネルギーの出納が負になり、泌乳初期における養分の不足は、分娩後日数の早い時期ほど、また産乳量の多い牛ほど著しい（津吉ら、1980）。これは分娩の負荷、乳量急増の負荷、ルーメン発酵の不安定等が影響して、採食能力が低迷することによるが、この時期に体重の減少が著しくなると、発情回帰や子宮の回復の遅延から受胎率の低下を招くことになる。近年、これらの乳牛の代謝および繁殖障害を最低限に抑えるために、分娩前の乾乳期における飼養方法の重要性が指摘されている。しかし、乾乳牛の管理にはあまり注意が払われておらず、一般に低質粗飼料多給の状態で行われている例がしばしばみられている。双胎妊娠牛は、単胎妊娠時よりもエネルギー要求量が大きいため、注意不足によるエネルギー欠乏状況は、より深刻となる。

分娩前の乳牛の状態は、泌乳後期、乾乳前期、乾乳後期、分娩と大きく変化する。この変化に対応して適切な飼養管理を行うことが大切である。ボディークンディション（体脂肪蓄積量）の調整は、泌乳後期までに終了して、乾乳期間には行わないことが望ましい。泌乳後期の方が、乾乳期に比較して、摂取エネルギーの体脂肪への蓄積効率が低い点からも体脂肪の調整に有利である。乾乳期間は、60日前後が最適といわれている。この分娩前の2か月間は胎子の

成長が著しい時期で、それに必要な養分を補充しなければならない。乾乳前期（乾乳直後から分娩前3週間）は、泌乳によるストレスから解放され、酷使された乳腺組織や第一胃の内壁を休息・回復させる期間であり、良質の粗飼料を十分に給与することが重要である。ただし、乾乳後期に比べて食欲の低下は起こりにくいため、食べ過ぎによる肥満に注意する。

(2) 双胎妊娠時の注意事項

肉用牛胎子を妊娠した乳用種母牛の要求量は、肉用種を母牛とした場合の要求量（農林水産省技術会議事務局, 1995a）よりやや高い（農林水産省技術会議事務局, 1994）。これは、大型の乳用種母牛に肉用種を単胎妊娠させた場合、肉用種を母牛とした場合より妊娠期間が長くなり、胎子の生時体重が大きくなる（第2章）ことを考慮したためであった。しかし、前項の要求量計算用基礎数値から、乳用種の母牛から生まれた肉用種子牛の生時体重は、肉用種の母牛から生まれたものと差はみられなかった。このことは、乳用種を母牛とする子牛の生時体重の多くが初産牛から得られたためであると考えられる。経産牛の母親から生まれる場合は、初産牛の時よりも子牛の生時体重が大きくなることが予測される（福原, 1976）ため、母体のボディコンディションに注意し、給与量をやや高めとする必要がある。双胎妊娠時の要求量は、肉用種の単胎妊娠時の2倍量よりやや少ない（Table 15）が、乳用種の単胎妊娠時よりは高くなっている。これは、前項の要求量計算用基礎数値から、子牛の生時体重が2頭あわせて48kgと単胎牛30kgの2倍量よりも小さく、乳用種単胎の43kgよりはやや大きいためである。

(3) 妊娠末期における飼料摂取量と給与飼料のエネルギー含量

分娩前の双胎ヒツジでは、成長した胎子によって消化管が圧迫され、採食量が減少するおそれがあることが知られている（Forbes, 1968）。第4章第1節から、双胎妊娠牛でも同様の傾向がみられることが明らかとなった。DMIは、分娩前1～2週間に10～30%減少することが観察されており（Zamet *et al.*, 1979;

Guerra-Martinez *et al.*, 1990; Bertics *et al.*, 1992), 分娩前 6 週間の DMI の減少と子牛の生時体重との間に有意な関係がある (Lenkeit *et al.*, 1966b) ことが示されている。また, 分娩が近づくに従って, 分娩や泌乳に備えたホルモンが分泌され, 体内でのホルモンバランスが崩れて食欲が減退するおそれがある。

さらに第 4 章第 1 節から, 双胎妊娠時には内容物の通過速度が増大するため, 消化率が低下し, 栄養不足がより深刻となることが明らかとなった。乾物摂取量低下の影響を検討するために, 分娩前 17 日間にルーメンカニューレから残飼を強制給餌した結果, 自由採食であった対照区 (DMI は試験区よりも 28% 低下) に比較して, 肝臓中の中性脂肪含量が低く, 分娩後 28 日間の乳量 (試験区: 46.0kg/day と対照区: 41.6kg/day) および乳脂肪 (試験区: 4.22%と対照区: 3.88%) が高かったという結果が得られている (Bertics *et al.*, 1992)。また, 過肥牛 (ボディコンディションスコアの 5 段階評価で 3.6 以上) は, 分娩前に乾物で体重の 1.5%の量しか摂取できず, 適正なコンディションの牛 (ボディコンディションスコアの 5 段階評価で 3.6 未満) は体重の 2%を摂取したことを示している。また, 過肥牛は分娩後 75 日間における発病率が, 適正なコンディションの牛よりも高かった (Emery, 1993)。乾乳後期に DMI が低い場合は, 分娩後も DMI が低いまま推移し (Bertics *et al.*, 1992), 代謝障害を引き起こしやすくなる (Lean *et al.*, 1994) ため, DMI の減少分を補うために, 栄養濃度の高い飼料を給与する必要がある。分娩前の乾物摂取量 (DMI) が低いと, 分娩後の代謝病が増加する (Bertics *et al.*, 1992) が, 分娩前 3 週間にエネルギーおよび蛋白摂取量を高めると, ケトーシスが減少する (Curtis *et al.*, 1985) ことが示されている。また, 乳牛では, 妊娠末期には胎子の発育と泌乳の準備のため, 養分要求量は最大となる (Bell, 1995) が, DMI は減少する (Forbes, 1995) ことが知られており, 分娩前 3 週間に養分要求量を満たすだけの飼料摂取が困難であるともいわれている。分娩 4 週前から 4 日前まで, 粗飼料と濃厚飼料の比率を 8:2 として給与した場合, 9.5:0.5 の場合と比較して, 乾物摂取量が 1 日 1.1kg 以上高かったとの報告があった (Hernandez-Urdaneta *et al.*, 1976) が, 妊娠末期に最適な飼料エネルギー含量は示されていない。

そこで第4章第2節において、分娩前乳牛の養分要求量を満たすだけの飼料摂取可能な最適飼料エネルギー含量について検討を行った。乾乳期間中、粗飼料と濃厚飼料の比率を 5:5 として日本飼養標準で設計した量を給与した場合、残飼を出すことなく全量摂取したが、9:1 の比率で給与した場合、分娩 3 週前から養分要求量を満たすだけの摂取量が得られず、エネルギー不足に陥るおそれがあることが明らかとなった。この試験結果から、妊娠末期に DMI を低下させないためには、特に分娩前 3 週間は、TDN 含量が 63%以上となるような飼料を給与する必要があることが明らかとなった。ただし、乾乳期に体脂肪を増加させることによっても、分娩後に代謝障害を引き起こしやすくなる (Fronk *et al.*, 1980) ため、エネルギー含量の高い飼料の給与には注意が必要であると思われる。そのため、今後も乾乳期における給与飼料の最適な栄養濃度についての詳細な検討が必要である。

わが国における分娩前後の飼養法に関する飼養試験結果 (笠井ら, 1996; 足立ら, 1997) から求めた、ホルスタイン種妊娠牛の分娩前 9 週間における乾物摂取量の推定式 (農林水産省技術会議事務局, 1998) は以下のとおりである。

妊娠 217~252 日 (TDN が 63%程度の飼料)

$$\text{DMI/MBS (kg/kg}^{0.75}\text{)} = 0.0714 \quad (n=217)$$

妊娠 259 日~分娩 (TDN が 67%程度の飼料)

$$\text{DMI/MBS (kg/kg}^{0.75}\text{)} = -0.0000213 \times t^2 - 0.0111 \times t - 1.377 \quad (n=217)$$

MBS (Metabolic Body Size) : 体重 (kg) の 0.75 乗, t: 妊娠日数

試験には、TDN 含量が乾乳前期では 63%、乾乳後期では 67%の TMR を用いており、リード飼養法 (有馬ら, 1980, 1982; 早川ら, 1983, 1984; 宇田ら, 1988; 笠井ら, 1996; 足立ら, 1997) に従って給与している。この結果から、給与飼料の濃度が高いものであれば、分娩前 3 週間においても現行の飼養標準の 110%以上の、十分な量の採食量が得られることが明らかとなった。ただし、上記の乾物摂取量推定式においても、あくまでも特定の飼養条件下における推定であり応用範囲は限られている。汎用性を持った精度の高い推定式作成するため、さらにデータ収集を継続する必要があると思われる。

乾乳後期の濃厚飼料の増給は、ルーメン微生物相の適応の他に、消化管内の絨毛組織を発達させ、揮発性脂肪酸（VFA）吸収能力を増大させる点においても重要である。ルーメン内膜がどの程度の期間で給与飼料のエネルギー濃度の変動に適応するかを検討した（Dirksen *et al.*, 1985）結果、ルーメン内膜が粗飼料多給で萎縮した状態から、高エネルギー飼料に適応して絨毛組織が十分に増殖するまでの期間は、4～5 週間であった。適応後は、適応前に比べて酢酸、プロピオン酸、酪酸のルーメンからの吸収速度は 5 倍になった。これらの結果から、ルーメン内膜の高エネルギー飼料への適応は、でんぷんや糖分の多量に含まれた濃厚飼料を多給する際の、ルーメン内 pH の安定化に重要であるといえる。

双胎妊娠による乾物摂取量の低下が著しく、ケトosis発症のおそれのある場合は、飼料添加剤として、プロピオン酸カルシウムやプロピレングリコールの利用も考えられる（Andrews, 1982; Studer *et al.*, 1993; Grummer *et al.*, 1994）。これらは、食品添加物として入手が容易で、値段も高いものではなく、嗜好性も良いという利点がある。また、胃壁から速やかに吸収され、肝臓でグルコースに生成されて血液中に放出される。血液中のグルコース濃度が急激に上昇すると、膵臓からインシュリンが分泌され、それを下げようとする反応が起きる。インシュリンは、体脂肪を蓄積させる働きもあるため、その濃度が高いと、体脂肪を遊離脂肪酸として動員しにくくなる。これらは、第 3 章で観察されたエネルギー不足に対する体内内分泌応答の逆の作用を利用した方法であり、特に過肥の牛で、乾乳後期に採食量が低下したものには、体脂肪の動員を抑制して肝臓の機能を維持するのに有効であると考えられる。

濃厚飼料やプロピレングリコール給与時と同様に、ルーメン内のプロピオン酸生成を増加させるイオノフォアの内モネンシンの利用も考えられる。モネンシンを分娩 1 週前から 3 週間後まで、1 日 0, 100 および 200mg 投与した結果、200mg 投与した場合、飼料摂取量が 1 日 1.2kg 減少したが、血液中のケトン体は 7.2 から 3.9mg/ml に低下した。またケトosisの発生率も、対照区の 50%に比較して投与区の方が 8.3%と低かった（Sauer *et al.*, 1989）と報告されている。

(4) 胎子数判定

近年、分娩直前における双胎妊娠の確認方法が開発されてきている。超音波診断装置による胎子数判定は、妊娠 30 日から 80 日目の妊娠初期においてのみ可能であって、妊娠 80 日目以降は胎子数の判定が困難となる (Gregory *et al.*, 1990; Echternkamp and Gregory, 1991)。妊娠末期においては、血中の特定成分濃度を分析することによる胎子数判定の可能性が考えられる。血中エストロンサルフェート濃度は、妊娠 140 日目から分娩まで双胎妊娠牛の方が高く、単胎妊娠牛では分娩前 10 日目に最高値を示して、その後分娩までの間に急激に濃度が減少するのに対して、双胎妊娠牛では分娩まで濃度が上昇し、分娩直前に最高値に達した (Echternkamp, 1992; 高橋ら, 1997)。妊娠中の母体のプロジェステロン濃度は、胎子数に比例して上昇した (Echternkamp, 1992)。初産牛の妊娠 190 日から分娩までの体重と血中 IGF-I 濃度を測定した結果、双胎牛の IGF-I 濃度は、いずれの妊娠ステージにおいても単胎牛よりも低かった (Holland *et al.*, 1988)。また第 3 章の結果から、インスリンやグルカゴン濃度およびインスリンとグルカゴンのモル比率の変化から、体内での養分充足状況を推測できるため、飼料摂取量とあわせて検討することで胎子数の判定が可能かもしれない。Van Saun and Sniffen (1995) は、双胎牛は単胎牛に比べてインシュリン濃度は低く、FFA や β ヒドロキシ酪酸濃度が高かったと報告している。血中エストロンサルフェート、プロジェステロン、インスリンおよびグルカゴン濃度は、測定が困難で費用も時間もかかるという欠点があるが、中西ら (1998) は、血中 β ヒドロキシ酪酸測定装置による簡易な胎子数判定の可能性を示唆している。Morris ら (1992) も、血中 β ヒドロキシ酪酸濃度が単胎牛よりも双胎牛の方が著しく高く、双胎妊娠判定の指標となることを報告している。双胎妊娠と判断された場合、分娩前には濃厚飼料の配合割合を増やし、給与飼料全体のエネルギー含量を高め、養分摂取量を落とさないように注意する必要がある。また、双胎牛では、助産を行うことにより、難産や死産の発生を単子分娩時と変わらない程度に防ぐことができるので、分娩予定日が近づいたら監視を

行い早めの助産を行うことが重要である。

(5) 今後の課題

第3章の結果から、妊娠末期（乾乳期）の飼養方法に関して特別な注意を払わない場合でも、極端な栄養不足に陥らないかぎりには、胎子は正常に成長する（Topps *et al.*, 1989）。ただ、そのような場合、母体の蓄積養分の大部分が動員されていて（Williams *et al.*, 1989）、分娩後の母体が余力を残していないおそれがあり、そのような牛では、泌乳初期の乳量や発情回帰は期待できず（Erb and Morrison, 1959; Gregory *et al.*, 1990; Mayne and McCaughey, 1990）、経済的損失は大きくなるものと予想される。今後は、妊娠末期の胎子への養分供給の適応制御機構がどのようなものか、何によって支配されているのかを解明し、泌乳初期の乳量および繁殖の高成績が期待されるような、妊娠末期（乾乳期）飼養管理技術を開発してゆくことが重要であると考ええる。

なお、本研究の成果は、1998年度日本飼養標準乳牛版（農林水産省技術会議事務局, 1998）の基礎資料として活用されている。

第 6 章 総括

近年、受精卵移植技術の向上にともない、乳用種の雌牛に対して複数の肉用種の受精卵を移植して双胎妊娠あるいは多胎妊娠させ、肉用牛の増殖を効率よく行なおうとする技術が開発されている。双胎妊娠牛では、単胎妊娠牛と比べて難産や死産等、分娩時の事故が多く、繁殖障害、廃用の増加および分娩後の乳量低下が観察されている。これら双胎妊娠にともなう分娩前後における種々の問題点は、栄養不足が原因となっているものが多いと考えられるが、分娩前の飼料の増給によって、分娩時の事故の減少による新生子牛の生存率及び分娩後の繁殖成績の向上がみられている。そのため、胎子の養分代謝および母体との栄養素配分とその制御機構を解明することは、妊娠末期における精密な飼養管理を行うために重要であると思われる。そこで、本研究では、単胎および双胎妊娠牛の妊娠末期における養分代謝について検討し、飼養管理技術について総合的に考察した。

1. 黒毛和種牛の受精卵を移植したホルスタイン種雌牛の妊娠末期におけるエネルギー要求量

最近急激に増加しつつある黒毛和種の受精卵を移植した単胎および双胎妊娠のホルスタイン種乳牛の、妊娠末期における代謝エネルギー（ME）要求量について検討した。試験には、黒毛和種胎子を妊娠したホルスタイン種の単胎牛を 12 頭および双胎牛を 6 頭用い、妊娠末期に飼養試験およびエネルギー代謝試験を実施して、養分要求量について検討した。

妊娠期間は単胎牛の方が長く、子牛 1 頭当りの分娩時体重は単胎の方が大きかった。双胎牛では、妊娠 210 日以降に飼料摂取量が減少したため、エネルギー摂取量が減少し、その結果分娩後の母牛の体重は試験開始時の体重よりも減少した。双胎牛の熱発生量は、分娩直前に大きく増加したため、エネルギーの蓄積量は大きく負となった。胎子のエネルギー利用効率は、単胎牛で 11.6%、双胎牛で 13.1%となり、大きな違いはみられなかった。

これらの結果から、黒毛和種の胎子を妊娠したホルスタイン種乳牛の分娩前 60 日間の妊娠に要する ME 量は単胎牛で 265Mcal、双胎牛で 450Mcal であり、分娩前 60 日間の ME 増給量は、単胎牛で 1 日あたり 4.4Mcal、双胎牛で 7.5Mcal となった。

2. 乳牛の妊娠末期におけるエネルギー水準が血漿代謝産物およびホルモン濃度に及ぼす影響

ホルスタイン種経産妊娠牛 26 頭を用いて、乳牛の妊娠末期におけるエネルギー摂取量が血中代謝産物およびホルモン濃度に及ぼす影響について検討した。イタリアンライグラス 2 番乾草またはサイレージ、および配合飼料を TDN でホルスタイン種母体の維持要求量（M 区）、または維持要求量に胎子 1 頭分を増給（MP 区）するものとした飼養試験を、妊娠 28 週目から行った。妊娠 30 週から 40 週まで 2 週に 1 度頸静脈および尾動脈から、それぞれ採食前に採血し、代謝産物濃度およびホルモン濃度の変化について検討した。M 区の血漿インスリン濃度は、妊娠 32 週以降は MP 区より有意に低く、妊娠 36 週以降は妊娠の進行に従って低下する傾向を示した。血漿グルコース濃度は、有意な差は観察されなかった。M 区の遊離脂肪酸（FFA）濃度は、試験期間中は常に MP 区より高い傾向にあり、妊娠 40 週目に上昇した。MP 区では、妊娠 38 週まではほとんど変化はみられなかったが、分娩直前の 40 週に急激に上昇した。妊娠 34 週目以降における M 区の各妊娠ステージでは、TDN 摂取量が低くなるに従って、インスリン濃度は低く、グルカゴン濃度は高く、インスリンとグルカゴンのモル比率は低くなり、グルカゴン作用が優勢となっていた。以上の結果から、妊娠に必要なエネルギーを増給せず、維持量のみで妊娠末期を飼養した乳牛ではインスリンおよびグルカゴン濃度が低く、FFA 濃度が高いことから体脂肪の動員が確認された。

3. 妊娠末期のヤギ妊娠子宮への養分供給量に及ぼす胎子数、栄養摂取量およびホルモン濃度の影響

低栄養条件下におけるヤギの胎子数が母体のホルモン濃度、子宮動脈血流量および妊娠子宮での正味養分取込量に及ぼす影響について検討した。ザーネン種妊娠ヤギ 10 頭（平均体重 43.1 ± 14.6 kg）を用いて、妊娠 105 日目に全身麻酔下で超音波血流計プローブを子宮動脈に装着し、カテーテルを子宮静脈および頸動脈へ挿入した。妊娠日数が、単胎妊娠ヤギ（ $n=4$ ）で 119.0 ± 3.3 日目、双胎妊娠（ $n=4$ ）で 113.5 ± 3.3 日目および多胎妊娠（胎子数 3, $n=2$ ）で 121.5 ± 4.6 日目において、3 時間に 1 度血液を採取し、同時に子宮動脈血流量も測定した。

代謝エネルギー摂取量は、単胎で妊娠ヤギ要求量の 56.4%，双胎で 59.4% および多胎で 71.4% を満たす量であった。単胎で ME 要求量の 56.4%，双胎で 59.4% および多胎で 71.4% を満たす量であった。多胎妊娠ヤギの熱発生量が単胎および双胎妊娠時よりも有意に高かったため（ $P < 0.01$ ），エネルギー蓄積量は最も低かった。中子宮動脈血液流量は、多胎妊娠時の方が単胎および双胎妊娠より高い傾向にあり、単胎および双胎妊娠の間には差はみられなかった。血漿中グルコース尿素窒素濃度は、多胎妊娠時の方が単胎および双胎妊娠よりも高かった。血漿中遊離脂肪酸濃度は、有意な差は観察されなかった。インスリン：グルカゴンモル比率は、多胎妊娠が最も低い傾向にあった。妊娠子宮正味グルコース取込量は、胎子数が増加するに従って高くなる傾向にあった。

以上の結果から、エネルギー出納が大きく負となっている多胎妊娠においても、胎子の生時体重にも大きな差はみられず、グルカゴン濃度の上昇およびグルコース子宮取り込み量の増加が観察されたことから、肝臓における糖新生を促進し、グリコーゲンを動員することによって、胎子への供給エネルギーが不足しないように補っているものと考えられた。また、本試験の手法を用いることによって、妊娠子宮の正味養分取込量を測定することが可能となり、精密な養分要求量推定に資するものと考えられる。

4. 胎子数および妊娠の進行が母牛の妊娠末期における飼料の消化管通過速度に及ぼす影響

妊娠末期における飼料の消化率低下の要因を解明するため、黒毛和種受精卵を移植した経産ホルスタイン種雌牛の単胎牛を 5 頭、双胎牛を 3 頭およびホルスタイン種を妊娠中の経産ホルスタイン種雌牛の単胎牛を 10 頭用いて、妊娠 210 日および 266 日目に標識飼料を給与し、直腸糞を経時的に採取して飼料固相の消化管通過速度を測定した。飼料給与水準は単胎牛では母牛維持量のみまたは胎子 1 頭分増給し、双胎牛では胎子 2 頭分を増給する計 3 水準とした。

単胎牛はほぼ計画給与量を採食したが、双胎牛では乾物摂取量が妊娠 210 日目の 10.07kg/day から、妊娠 266 日目には 9.11kg/day と減少した。子牛 1 頭当りの分娩時体重は単胎の方が大きかったが、双胎牛では 2 頭で平均 61kg となり単胎牛の 40kg と比較して大きく、消化管が著しく圧迫されているものと予想された。単胎牛では、妊娠 210 および 266 日目のいずれにおいても給与水準の高い方が飼料の通過速度が大きく、また妊娠の進行によって通過速度がやや上昇する傾向がみられた。双胎牛では妊娠 210 日と 266 日の間で、飼料の消化管内滞留時間にはほとんど差はみられなかった。以上のことから単胎牛では、飼料の増給および妊娠の進行による飼料の消化管通過速度の上昇が観察され、妊娠末期における消化率の低下の要因のひとつである可能性が示唆された。双胎牛では、妊娠末期に乾物摂取量が減少したため、消化管の圧迫による影響が相殺され、妊娠の進行が飼料固相の通過速度に及ぼす明確な影響は認められなかった。

5. 飼料の粗濃比が妊娠末期の乾乳牛の乾物摂取量に及ぼす影響

経産ホルスタイン種乾乳牛 8 頭（体重：672.1±95.1kg，産次：4.1±1.7 産）を用いて、分娩予定 13 週前から分娩までイタリアンライグラス 1 番草の乾草ウエハーと配合飼料の比率が 9:1（H 区，n=3，1 頭除外）または 5:5（C 区，n=4）となるように混合して給与し、乾物摂取量（DMI）を測定した。飼料は、可消化養分総量（TDN）でホルスタイン種の維持要求量にホルスタイン種の胎子 1 頭増給分を満たすものとした。H 区では分娩 4 週前以降に残飼が観察され、分娩が近づくに従ってその量が大きく増加し、乾物給与量に対する DMI

の割合は分娩 1 週前に低くなる傾向 ($P<0.10$) がみられた。C 区では、全頭が給与飼料を全量採食した。仮に、本試験の H 区における DMI を、分娩前各週における限界乾物摂取量とすると、分娩前 4 週間における乾乳牛のエネルギー要求量を満たす飼料中 TDN 含量は 63.1%と計算される。したがって、本試験の H 区に類似した飼料条件のもとでは、分娩 4 週前から養分要求量を満たすだけの DMI が得られず、エネルギー不足に陥るおそれがあることが明らかになった。

謝辞

本論文取りまとめにあたりご校閲とご指導を賜った、京都大学農学部宮本元教授、矢野秀雄教授ならびに佐々木義之教授に厚く御礼申し上げます。

本研究は、農林水産省畜産試験場で行われたものである。本研究の遂行にあたって、終始有益なご指導を賜った畜産試験場反すう家畜代謝研究室長寺田文典博士、前畜産試験場反すう家畜代謝研究室長柴田正貴博士（現九州農業試験場畜産部長）、前畜産試験場栄養部長阿部亮博士（現日本大学生物資源学部教授）、ならびに本研究のきっかけを与えて下さった元畜産試験場栄養部長針生程吉博士（現社団法人畜産技術協会研究開発第一部長）に深く感謝の意を表します。

本試験を実施するにあたって、終始激励ならびに献身的なご協力いただいた前畜産試験場反すう家畜代謝研究室主任研究官栗原光規博士（現農林水産技術会議調査官）、畜産試験場反すう家畜代謝研究室主任研究官永西修博士、科学技術特別研究員 Agung Purnomoadi 博士（Diponegoro 大学, Indonesia）、科学技術特別研究員樋口浩二博士に感謝の意を表します。

実験動物の管理および試験用飼料作成を担当していただいた畜産試験場業務第一科職員各位、試料の分析に際して多大なるご協力をいただいた臼井房子元技官、染谷美雪氏、北海道立北見農業試験場専門技術員田中義春氏、ならびに SAS の利用方法について有益なご助言をいただいた元科学技術特別研究員上田宏一郎博士（現北海道大学農学部助手）に厚く御礼申し上げます。

最後に、論文作成にあたって、種々の便宜を図って下さった農林水産省草地試験場飼料生産利用部乳牛飼養研究室各位に、感謝の意を表します。

引用文献

- 足立憲隆, 鈴木和明, 笠井勝美, 廣木政昭, 武田正寛, 木船厚恭, 生方順亮, 土屋友充, 長谷川鬼子男, 富田道則, 福島 毅, 稲葉 満, 武井一男, 酒井喜義, 吉井邦雄, 小塩静夫, 東井滋能, 藤野日出海, 森下賀之, 栗原昭広, 入江 明, 野中敏道, 圓山 繁, 中島宣好, 大山政勝, 新宅敏博, 阿部 亮, 久米新一, 西田武弘, 野中最子. 乳牛の分娩前後の飼養法に関する研究(飼料給与法の改善による高品質乳の生産と繁殖性に関する研究). 茨城県畜産試験場研究報告, 25: 1-55. 1997.
- Andrews AH. Effects of glucose and propylene glycol on pregnancy toxæmia in ewes. *Veterinary Record*, 110: 84-85. 1982.
- Annison EF, Gooden JM, Hough GM and McDowell GH. Physiological cost of pregnancy and lactation in the ewe. In: *Reproduction in sheep*. (Lindsay DR and Pearce DT, eds.) 144-152. Cambridge University Press. Cambridge, New York, USA. 1984.
- 有村正利, 早川研一, 増満州市郎, 野見山敬一, 渡辺 弘, 西田 茂, 河西直樹, 大山 宏, 興津善徳, 白井健康, 小西欽一郎, 戸田士郎, 中森悦夫, 河村康雄, 志垣 啓, 木場俊太郎, 岡本昌三, 浜田龍夫, 横内圀生. 乳牛の分娩前後の飼養法に関する研究. 乳牛における高エネルギー飼養のための飼料構成の解明に関する研究. 茨城県畜産試験場研究報告, 4: 1-74. 1982.
- 有村正利, 吾妻 健, 滑川治郎, 増満州市郎, 野見山敬一, 深江義忠, 竹原 誠, 中垣一成, 石田小十郎, 山口博司, 山本伸明, 大森昭一郎, 岡本昌三, 浜田龍夫, 尾台昌治, 伊藤 稔. 乳牛の分娩前後の飼養法特に泌乳初期における飼料増給に関する研究. 茨城県畜産試験場研究報告, 3: 1-90. 1980.
- 板東 健, 出岡謙太郎, 原 悟志, 森 清一, 南橋 昭. トウモロコシサイレー
ジ主体混合飼料における粗飼料と濃厚飼料の比率並びに粗蛋白質含量が高
泌乳牛の泌乳前期における飼料摂取量と乳生産に及ぼす影響. 新得畜産試験
場研究報告, 18: 47-58. 1991.

- Bauman DE and Currie WB. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science*, 63: 1514-1529. 1980.
- Bell AW. Factors controlling placental and foetal growth and their effects on future production. In: *Reproduction in sheep*. (Lindsay DR and Pearce DT, eds.) 144-152. Cambridge University Press. Cambridge, New York, USA. 1984.
- Bell AW. Pregnancy and fetal metabolism. In: *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*. (Forbes JM and France J, eds.) 405-432. CAB INTERNATIONAL. Wallingford, UK. 1993.
- Bell AW. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science*, 73: 2804-2819. 1995.
- Bell AW, Battaglia FC and Meschia G. Relation between metabolic rate and body size in the ovine fetus. *Journal of Nutrition*, 117: 1181-1186. 1987.
- Bell AW, Slepatis R and Ehrhardt RA. Growth and accretion of energy and protein in the gravid uterus during late pregnancy in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 78: 1954-1961. 1995.
- Bellows RA, Short RE, Kitto GP, Staigmiller RB and MacNeil MD. Influence of sire, sex of fetus and type of pregnancy on conceptus development. *Theriogenology*, 34: 941-954. 1990.
- Bergman EN. Glucose metabolism in ruminants as related to hypoglycemia and ketosis. *Cornell Veterinarian*, 63: 341-382. 1973.
- Bertics SJ, Grummer RR, Cadorniga-valino C and Stoddard EE. Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *Journal of Dairy Science*, 75: 1914-1922. 1992.
- Blaxter KL. The effect of the amount of food given on its apparent digestibility. In: *The energy metabolism of ruminants*. 192-195. Hutchinson & Co Ltd. London. 1967.
- Brockman RP. Glucose and short-chain fatty acid metabolism. In: *Quantitative aspects*

- of ruminant digestion and metabolism. (Forbes JM and France J, eds.) 249-265. CAB INTERNATIONAL. Wallingford, UK. 1993.
- Brouwer E. Report of sub-committee on constants and factors. In: Proceedings of Proceedings of the 3rd Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals. (Blaxter KL, eds.) 441-443. European association for animal production. Troon, Scotland. 1965.
- Butler WR and Smith RD. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 72: 767-783. 1989.
- Candy RA and VanVleck LD. Factors affecting twinning and effects of twinning in Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 46: 950-956. 1978.
- Curtis CR, Erb HN, Sniffen CJ, Smith RD and Kronfeld DS. Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 68: 2347-2360. 1985.
- 大道寺郁子, 井関尚子, 笠井裕明, 平田統一, 岡田啓司, 三宅陽一, 金田義宏. 乳牛における双子娩出前後の臨床所見、血液性状および血中性ステロイドホルモンの変化. *家畜繁殖学会誌*, 39: 23-29. 1993.
- Davis ME, Harvey WR, Bishop MD and Gearheart WW. Use of embryo transfer to induce twinning in beef cattle: Embryo survival rate, gestation length birth weight and weaning weight of calves. *Journal of Animal Science*, 67: 301-310. 1989.
- Davis PJ and Johnston RG. Influence of energy intake on plasma level of glucose, non-esterified fatty acids and acetone in the pregnant ewe. *Journal of Agricultural Science*, 77: 261. 1971.
- DeRose EP and Wilton JW. Productivity and profitability of twin births in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 69: 3085-3093. 1991.
- Dirksen GU, Liebich HG and Mayer E. Adaptive changes of the ruminal mucosa and their functional and clinical significance. *The Bovine Practitioner*, 20: 116-120. 1985.
- Diskin MG, McEvoy TG and Sreenan JM. Calving performance and calf survival in a

- twin-calving beef herd. In: Proceedings of 100th Meeting of The British Society of Animal Production. 545. Animal Science. Scarborough, England, UK. 1990.
- Echternkamp SE. Fetal development in cattle with multiple ovulations. *Journal of Animal Science*, 70: 2309-2321. 1992.
- Echternkamp SE and Gregory KE. Identification of twin pregnancies in cattle by ultrasonography. In: Proceedings of 83rd Annual Meeting of The American Society of Animal Science. 220. Laramie, Wyoming, USA. 1991.
- Eisemann JH, Huntington GB and Ferrell CL. Blood flow to hindquarters of steers measured by transit time ultrasound and indicator dilution. *Journal of Dairy Science*, 70: 1385-1390. 1987.
- Elphick MC, Hull D and Pipkin FB. The transfer of fatty acids across the sheep placenta. *Journal of Developmental Physiology*, 1: 31-45. 1979.
- Emery RS. Energy needs of dry cows. In: Proceedings of Tri-state Dairy Nutrition Conference. 35. Purdue University. Fort Wayne, Indiana. 1993.
- Erb RB and Morrison RA. Effects of twinning on reproductive efficiency in a Holstein-Friesian herd. *Journal of Dairy Science*, 42: 512-519. 1959.
- Everts H. Feeding strategy during pregnancy for ewes with a large litter size. 1. Effect of quantity and composition of concentrates on intake and reproductive performance. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 38: 527-540. 1990a.
- Everts H. Feeding strategy during pregnancy for ewes with a large litter size. 2. Effect on blood parameters and energy status. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 38: 541-554. 1990b.
- Faichney GJ and White GA. Rate of passage of solutes, microbes and particulate matter through the gastro-intestinal tract of ewes fed at a constant rate throughout gestation. *Australian Journal of Agricultural Research*, 39: 481-492. 1988.
- Ferrell CL. Maternal and fetal influences on uterine and conceptus development in the cow: 1. growth of tissues of the gravid uterus. *Journal of Animal Science*, 69: 1945-1953. 1991a.

- Ferrell CL. Maternal and fetal influences on uterine and conceptus development in the cow: 2. blood flow and nutrient flux. *Journal of Animal Science*, 69: 1954-1965. 1991b.
- Ferrell CL and Ford SP. Blood flow steroid secretion and nutrient uptake of the gravid bovine uterus. *Journal of Animal Science*, 50: 1113-1121. 1980.
- Ferrell CL, Garrett WN and Hinman N. Growth, development and composition of the udder and gravid uterus of beef heifers during pregnancy. *Journal of Animal Science*, 42: 1477-1489. 1976a.
- Ferrell CL, Garrett WN, Hinman N and Grichting G. Energy utilization by pregnant and non-pregnant heifers. *Journal of Animal Science*, 42: 937-950. 1976b.
- Ferrell CL and Reynolds LP. Oxidative metabolism of gravid uterine tissues of the cow. In: *Proceedings of the 10th Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals*. (Moe PW, Tyrrell HF and Reynolds PJ, eds.) 298-301. EAAP. Beltsville, Maryland, U. S. A. 1985.
- Ferrell CL and Reynolds LP. Uterine and umbilical blood flows and net nutrient uptake by fetuses and uteroplacental tissues of cows gravid with either single or twin fetuses. *Journal of Animal Science*, 70: 426-433. 1992.
- Forbes JM. The physical relationship of the abdominal organs in the pregnant ewe. *Journal of Agricultural Science*, 70: 171-177. 1968.
- Forbes JM. The effect of pregnancy and fatness on the volume of rumen contents in the ewe. *Journal of Agricultural Science*, 72: 119-121. 1969.
- Forbes JM. The voluntary food intake and diet selection in farm animals. CAB INTERNATIONAL. Wallingford, UK. 1995.
- Freetly HC and Ferrell CL. Oxygen consumption by and blood flow across the portal-drained viscera and liver of pregnant ewes. *Journal of Animal Science*, 75: 1950-1955. 1997.
- Fronk TJ, Schultz LH and Hardie AR. Effect of dry period overconditioning on subsequent metabolic disorders and performance of dairy cows. *Journal of Dairy*

- Science, 63: 1080-1090. 1980.
- 福原利一. 和牛の発育について. 日本畜産学会報, 47: 561-569. 1976.
- Gooden JM and Giles LR. A new procedure for the continuous measurement of energy expenditure in pigs and sheep. Proceedings of the Nutrition Society Australia, 16: 182-189. 1991.
- Gordon I, Williams G and Edwards J. The use of serum gonadotrophin (P.M.S.) in the induction of twin-pregnancy in the cow. Journal of Agricultural Science, 59: 143-198. 1962.
- Graham NM and Williams AJ. The effects of pregnancy on the passage of food through the digestive tract of sheep. Australian Journal of Agricultural Research, 13: 894-900. 1962.
- Gregory KE, Echternkamp SE and Cundiff LV. Effects of twinning on dystocia, calf survival, calf growth, carcass traits, and cow productivity. Journal of Animal Science, 74: 1223-1233. 1996.
- Gregory KE, Echternkamp SE, Dickerson GE, Cundiff LV, Koch RM and VanVleck LD. Twinning in cattle: 3. Effects of twinning on dystocia, reproductive traits, calf survival, calf growth and cow productivity. Journal of Animal Science, 68: 3133-3144. 1990.
- Grovum WL and Williams VJ. Rate of passage of digesta in sheep 4. Passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate-constants derived from the changes in concentration of marker in faeces. British Journal of Nutrition, 30: 313-329. 1973.
- Grummer RR. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. Journal of Dairy Science, 76: 3882-3896. 1993.
- Grummer RR, Winkler JC, Bertics SJ and Studer VA. Effect of propylene glycol dosage during feed restriction on metabolites in blood of prepartum Holstein heifers. Journal of Dairy Science, 77: 3618-3623. 1994.
- Guada JA, Robinson JJ and Fraser C. The effect of a reduction in food intake during

- late pregnancy on nitrogen metabolism in ewes. *Journal of Agricultural Science*, 86: 111-116. 1976.
- Guerra-Martinez P, Dickerson GE, Anderson GB and Green RD. Embryo-transfer twinning and performance efficiency in beef production. *Journal of Animal Science*, 68: 4039-4050. 1990.
- Hanks DR, Judkins MB, Mccracken BA, Holcombe DW, Krysl LJ and Park KK. Effects of pregnancy on digesta kinetics and ruminal fermentation in beef cows. *Journal of Animal Science*, 71: 2809-2814. 1993.
- 橋爪徳三, 森本 宏, 増淵敏彦, 安部道夫, 浜田龍夫, 堀井 聡, 実川義人, 横田千尺. 乳牛の飼養標準に関する研究, 6. 乳牛の妊娠時におけるエネルギー代謝と養分要求量. 畜産試験場特別報告, 5: 6-44. 1964a.
- 橋爪徳三, 森本 宏, 増淵敏彦, 安部道夫, 堀井 聡, 浜田龍夫, 田中孝之介, 高橋正也, 海塩義男, 安保庄一郎. 乳牛の飼養標準に関する研究, 2. 乳牛の維持養分要求量に関する研究. 畜産試験場特別報告, 2: 7-77. 1964b.
- Hay Jr. WW, Sparks JW, Battaglia FC and Meschia G. Maternal-fetal glucose exchange: necessity of a three-pool model. *American Journal of Physiology*, 246: E528-E534. 1984a.
- Hay Jr. WW, Sparks JW, Gilbert M, Battaglia FC and Meschia G. Effect of insulin on glucose uptake by the maternal hindlimb and uterus, and by the fetus in conscious pregnant sheep. *Journal of Endocrinology*, 100: 119-124. 1984b.
- Hay Jr. WW, Sparks JW, Wilkening RB, Meschia G and Battaglia FC. Fetal glucose uptake and utilization as functions of maternal glucose concentration. *American Journal of Physiology*, 246: E237-E242. 1984c.
- 早川研一, 有村正利, 野見山敬一, 森 昭治, 渡辺 弘, 西田 茂, 河西直樹, 興津善徳, 白井健康, 中西 健, 戸田士郎, 中森悦夫, 河村康雄, 矢野利彦, 磯川宗逸, 浜田龍夫, 板橋久雄, 岡本昌三. 乳牛の分娩前後の飼養法に関する研究. 乳牛における高エネルギー飼養のための飼料構成の解明に関する研究. 茨城県畜産試験場研究報告, 5: 1-39. 1983.

- 早川研一, 佐藤義信, 高椋久次郎, 森 昭治, 酒出淳一, 河西直樹, 渡辺正樹, 茄子川重晃, 興津善徳, 森 啓明, 荒田好彦, 中西 健, 津森 宏, 河村康雄, 鳴川成清, 広松重弘, 浜田龍夫, 板橋久雄. 乳牛の分娩前後の飼養法に関する研究. 乳牛における高エネルギー飼養のための飼料構成の解明に関する研究. 茨城県畜産試験場研究報告, 6: 1-41. 1984.
- Hayirli A, Grummer RR, Nordheim E, Crump P, Beede DK, VandeHaar MJ and Kilmer H. A mathematical model for describing dry matter intake of transition dairy cows. *Journal of Animal Science*, 76 (Suppl. 1): 296. 1998.
- Henseler G and Jentsch W. Utilization of food energy for milk production. (6)Energy turnover in high-yielding cows in the late period of gestation. *Arch. Tierernahrung*, 23: 567-579. 1973.
- Hernandez-Urdaneta A, Coppock CE, McDowell RE, Gianola D and Smith NE. changes in forage-concentrate ratio of complete feeds for dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 59: 695-707. 1976.
- Herriman ID, Heitzman RJ, Priestley I and Sandhu GS. Concentrations of intermediate metabolites in the blood and hepatic tissues of pregnant and non-pregnant ewes. *Journal of Agricultural Science*, 87: 407-411. 1976.
- Holland MD, Hossner KL, Tatum JD, King ME, Mauck HS and Odde KG. Serum insulin-like growth factor I profiles in beef heifers with single and twin pregnancies. *Journal of Animal Science*, 66: 3190-3196. 1988.
- Hu G, McCutcheon SN, Parker WJ and Walsh PA. Blood metabolite levels in late pregnant ewes as indicators of their nutritional status. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 33: 63-68. 1990.
- 生田健太郎, 福尾憲久, 山口悦司, 小嶋 睦, 高田 修. 高泌乳牛の泌乳初期におけるバイパス蛋白質率が栄養生理と乳生産に及ぼす影響. 兵庫県農業技術センター研究報告 (畜産), 34: 23-30. 1998a.
- 生田健太郎, 福尾憲久, 山口悦司, 小嶋 睦, 高田 修. 分娩前のバイパス蛋白質率が初妊牛の泌乳初期における栄養生理と乳生産に及ぼす影響. 兵庫県農

- 業技術センター研究報告（畜産）, 34: 16-22. 1998b.
- 磯貝 保, 中西孝敏, 渡辺裕一郎, 有馬真紀子. 乳用牛を活用した F1 双子生産技術の開発-ホルモン低単位投与による誘起多胎-. 畜産技術, 419: 1-7. 1990.
- 岩崎和雄, 針生程吉, 田野良衛, 寺田文典, 伊藤 稔, 亀岡喧一. 畜産試験場に新設した家畜代謝実験装置について, とくに呼吸試験装置の機能を中心として. 畜産試験場研究報告, 39: 41-78. 1982.
- 岩崎和雄. 黒毛和種牛の妊娠時におけるエネルギー代謝とエネルギー利用効率. 畜産試験場研究報告, 45: 25-92. 1986.
- Jakobsen PE, Sorensen HP and Larsen H. Energy investigations as related to fetus formation in cattle. *Acta Agriculturae Scandinavia*, 7: 103-112. 1957.
- Johnson TR and Combs DK. Effects of prepartum diet, inert rumen bulk, and dietary polyethylene glycol on dry matter intake of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 74: 933-944. 1991.
- 笠井勝美, 白谷浩之, 廣木政昭. 乳牛の栄養配分の改善に関する研究. 茨城県畜産試験場研究報告, 23: 1-13. 1996.
- Kelman GR. Digital computer subroutine for the conversion of oxygen tension into saturation. *Journal of Applied Physiology*, 21: 1375-1376. 1966.
- Koong LJ, Anderson GB and Garret WN. Maternal energy status of beef cattle during single and twin pregnancy. *Journal of Animal Science*, 54: 480-484. 1982.
- Lean IJ, Bruss ML, Troutt HF, Galland JC, Farver TB, Rostami J, Holmberg CA and Weaver LD. Bovine ketosis and somatotrophin: risk factors for ketosis and effects of ketosis on health and production. *Research in Veterinary Science*, 57: 200-209. 1994.
- Lemons JA, Adcock 3 EW, Jones Jr. MD, Naughton MA, Meschia G and Battaglia FC. Umbilical uptake of amino acids in the unstressed fetal lamb. *The Journal of Clinical Investigation*, 58: 1428-1434. 1976.
- Lemons JA and Schreiner RL. Amino acid metabolism in the ovine fetus. *American Journal of Physiology*, 244: E459-E466. 1983.

- Lenkeit W, Witt M, Farries E and Djamari R. Studies of weight changes and feed intake at the end of pregnancy and the beginning of lactation. *Schriftenreihe Max-Planck-Institute Tierzucht Tierernahrung*, 25: 91. 1966a.
- Lenkeit W, Witt M, Farries E and Djamari R. Studies of weight changes and feed intake at the end of pregnancy and the beginning of lactation. *Nutrition Abstracts and Reviews*, 37: 262-263. 1966b.
- Liechty EA, Kelley J and Lemons JA. Effect of fasting on uteroplacental amino acid metabolism in the pregnant sheep. *Biology of the Neonate*, 60: 207-214. 1991.
- Ling PR, Bistrian BR, Blackburn GL and Istfan N. Effect of fetal growth on maternal protein metabolism in postabsorptive rat. *American Journal of Physiology*, 252: E380-. 1987.
- Lungu J and Palmer WM. Effect of fetal number on maternal hormone concentrations in the sheep. *Canadian Journal of Animal Science*, 66: 1192. 1986.
- Mayne CS and McCaughey WJ. An evaluation of the effects of twinning in dairy cows on animal production. In: *Proceedings of 100th Meeting of The British Society of Animal Production*. 545. Animal Science. Scarborough, England, UK. 1990.
- Meznarich HK, Hay Jr. WW, Sparks JW, Meschia G and Battaglia FC. Fructose disposal and oxidation rates in the ovine fetus. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, 72: 617-625. 1987.
- 宮腰 伸, 磯貝 保, 佐々木一八, 田上順道, 熊田善一郎. 乳用牛への新生産技術の影響(3)－双子分娩後の後産停滞発生状況とPGF 2α 投与による予防の効果－. *日本畜産学会東北支部会報*, 40: 88. 1990.
- Moe PW and Tyrrell HF. Metabolizable energy requirements of pregnant dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 55: 480-483. 1972.
- Moe PW and Tyrrell HF. The rationale of various energy systems for ruminants. *Journal of Animal Science*, 37: 1973.
- Molina RD, Meschia G and Wilkening RB. Uterine blood flow oxygen and glucose uptakes at mid-gestation in the sheep. *Proceedings of the Society for Experimental*

- Biology and Medicine, 195: 379-385. 1990.
- 森本 宏. 動物栄養試験法. 280-396. 養賢堂. 東京. 1971.
- Morris CA, Day AM and Jones KR. Blood metabolites near calving in twin-pregnant and single-pregnant cows. Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production, 52: 21-24. 1992.
- Nakanishi Y, Akagi S, Orita J, Fukuda H and Hisano Y. Simple diagnosis of twin pregnancy by blood levels of 3-hydroxybutyric acid using keto meter at late pregnancy in cows. In: Proceedings of Annual Conference of the International Embryo Transfer Society. 352. Theriogenology. Boston, Massachusetts, USA. 1998.
- National Research Council. Nutrient requirements of goats. 3-11. National Academy Press. Washington, D. C. 1981.
- National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. 6th revised ed. National Academy of Sciences. Washington, D. C. 1989.
- National Research Council. Nutrient requirements of beef cattle. 7th revised ed. National Academy of Sciences. Washington, D. C. 1996.
- Nielen M, Schukken YH, Scholl DT, Wilbrink HJ and Brand A. Twinning in dairy cattle: A study of risk factors and effects. Theriogenology, 32: 845-862. 1989.
- 農林水産省技術会議事務局. 日本飼養標準肉牛(1987 年版). 中央畜産会. 東京. 1987a.
- 農林水産省技術会議事務局. 日本飼養標準乳牛(1987 年版). 中央畜産会. 東京. 1987b.
- 農林水産省技術会議事務局. 日本飼養標準乳牛(1994 年版). 中央畜産会. 東京. 1994.
- 農林水産省技術会議事務局. 日本飼養標準肉牛(1995 年版). 中央畜産会. 東京. 1995a.
- 農林水産省技術会議事務局. 日本標準飼料成分表(1995 年版). 中央畜産会. 東京. 1995b.

- 農林水産省技術会議事務局. 日本飼養標準乳牛(1999 年版). 中央畜産会. 東京. 1999.
- O'Doherty JV and Crosby TF. Blood metabolite concentrations in late pregnant ewes as indicators of nutritional status. *Animal Science*, 66: 675-683. 1998.
- Orr RJ, Newton JE and Jackson CA. The intake and performance of ewes offered concentrates and grass silage in late pregnancy. *Animal Production*, 36: 21-27. 1983.
- Orr RJ and Treacher TT. The effect of concentrate level on the intake of hays by ewes in late pregnancy. *Animal Science*, 39: 89-98. 1984.
- Owens JA, Falconer J and Robinson JS. Effect of restriction of placental growth on umbilical and uterine blood flows. *American Journal of Physiology*, 250: R427-R434. 1986.
- Pethick DW and Lindsay DB. Metabolism of ketone bodies in pregnant sheep. *British Journal of Nutrition*, 48: 549-563. 1982.
- Pethick DW, Lindsay DB, Barker PJ and Northrop AJ. The metabolism of circulating non-esterified fatty acids by the whole animal, hind-limb muscle and uterus of pregnant ewes. *British Journal of Nutrition*, 49: 129-143. 1983.
- Pettersen JA, Slepatis R, Ehrhardt RA, Dunshea FR and Bell AW. Pregnancy but not moderate undernutrition attenuates insulin suppression of fat mobilization in sheep. *Journal of Nutrition*, 124: 2431-2436. 1994.
- Preston RL, Schnakenberg DD and Pfander WH. Protein utilization in ruminants. 1. Blood urea nitrogen as affected by protein intake. *Journal of Nutrition*, 68: 281. 1965.
- Prior RL and Laster DB. Development of the bovine fetus. *Journal of Animal Science*, 48: 1546-1553. 1979.
- Rankin JHG, Jodarski G and Shanahan MR. Maternal insulin and placental 3-O-methyl glucose transport. *Journal of Developmental Physiology*, 8: 247-253. 1986.
- Refsal KR, Marteniujk JV, Williams CSF and Nachreiner RF. Concentrations of

- estrone sulfate in peripheral serum of pregnant goats relationships with gestation length fetal number and the occurrence of fetal death in-utero. *Theriogenology*, 36: 449-462. 1991.
- Reid IM, Rowlands GJ, Dew SM, Collins RA, Roberts CJ and Manston R. The relationship between post-parturient fatty liver and blood composition in dairy cows. *Journal of Agricultural Science*, 101: 473-480. 1983.
- Reynolds LP, Ferrell CL, Nienaber JA and Ford SP. Effects of chronic environmental heat stress on blood flow and nutrient uptake of the gravid bovine uterus and foetus. *Journal of Agricultural Science*, 104: 289-297. 1985.
- Reynolds LP, Ferrell CL, Robertson DA and Ford SP. Metabolism of the gravid uterus, foetus and utero-placenta at several stages of gestation in cows. *Journal of Agricultural Science*, 106: 437-444. 1986.
- Robinson JJ, McDonald I, McHattie I and Pennie K. Studies on reproduction in prolific ewes 4. Sequential changes in the maternal body during pregnancy. *Journal of Agricultural Science*, 91: 291-304. 1978.
- Russel AJF, Doney JM and Reid RL. The use of biochemical parameters in controlling nutritional state in pregnant ewes, and the effect of undernourishment during pregnancy on lamb birth weight. *Journal of Agricultural Science*, 68: 351-358. 1967.
- Ryan DP and Boland MP. Frequency of twin births among holstein-friesian cows in a warm dry climate. *Theriogenology*, 36: 1-10. 1991.
- Sahlu T, Hart SP, Le-trong T, Jia Z, Dawson L, Gipson T and Teh TH. Influence of prepartum protein and energy concentrations for dairy goats during pregnancy and early lactation. *Journal of Dairy Science*, 78: 378-387. 1995.
- SAS, Institute and Inc. SAS user's Guide, Release 6.03 ed. Cary, NC. 1988.
- 佐々木康之. 反芻動物におけるの臍内分泌に関する最近の研究. *日本畜産学会報*, 51: 383-392. 1980.
- 佐藤幸信, 斎藤利朗, 杉本昌仁, 本郷泰久, 川崎 勉. 双胎妊娠牛の妊娠末期の

- 代謝エネルギー要求量. 新得畜産試験場研究報告, 21: 9-14. 1994.
- Sauer FD, Kramer JKG and Cantwell WJ. Antiketogenic effects of monensin in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 72: 436-442. 1989.
- Schreiner RL, Lemons JA and Gresham EL. Effect of maternal malnutrition on singleton and twin pregnancies in the sheep. *Nutrition Reports International*, 21: 525-530. 1980.
- Shaver RD, Nytes AJ, Satter LD and Jorgensen NA. Influence of amount of feed intake and forage physical form on digestion and passage of prebloom alfalfa hay in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 69: 1545-1559. 1986.
- Simmons MA, Battaglia FC and Meschia G. Placental transfer of glucose. *Journal of Developmental Physiology*, 1: 227-243. 1979.
- Stacey TE, Weedon AP, Haworth C, Ward RHT and Boyd RDH. Fetomaternal transfer of glucose analogues by sheep placenta. *American Journal of Physiology*, 234: E32-E37. 1978.
- Steel JW and Leng RA. Effect of plane of nutrition and pregnancy on gluconeogenesis in sheep 1. The kinetics of glucose metabolism. *British Journal of Nutrition*, 30: 451-473. 1973.
- Studer VA, Grummer RR, Bertics SJ and Reynolds CK. Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 76: 2931-2939. 1993.
- Suzuki O, Aoki M and Kimura K. Twin production by embryo transfer in Japanese Black-Holstein crossbred cows. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 32: 131-138. 1998.
- Syrstad O. Effects of twinning on milk production in dairy cattle. *Livestock Production Science*, 4: 255-261. 1977.
- Takahashi T, Hirako M, Takahashi H, Patel OV, Takenouchi N and Domeki I. Maternal plasma estrone sulfate profile during pregnancy in the cow Comparison between singleton and twin pregnancies. *Journal of Veterinary and Medical Science*,

59: 287-288. 1997.

Topps JH, Islam MN, Broadbent PJ and Paterson GFM. Effect of pre-calving nutrition on the performance of twin bearing beef cows and their calves. In: Proceedings of 98th Meeting of The British Society of Animal Production. 617. Scarborough, England, UK. 1989.

津吉 炯, 後藤幸雄, 阿部正夫, 本田幸和, 高橋忠広, 桜井文人, 大野光男, 苦米地達生, 前之園孝光, 江藤哲雄, 鳥山秀典, 瓦井哲夫, 米本貞夫, 田中農夫幸, 本橋 隆, 関口 博, 遠畑 亮, 中野房次, 原 拓夫, 池田元浩, 亀岡暄一, 大森昭一郎, 針生程吉, 金子忠恒. 牛乳高位生産の農家の飼養法実態調査. 栃木県酪農試験場特別報告, 2: 1980.

宇田三男, 浅野鉄太郎, 佐藤義信, 矢口長彦, 福島 毅, 丸山国美, 入江 壮, 中垣一成, 酒井淳一, 高橋広尚, 沼部 孝, 大久範幸, 佐々木和夫, 長谷川鬼子男, 佐藤尚史, 籠橋太史, 高柳弘一, 興津善徳, 松永章宏, 田中穂積, 荒田好彦, 安原健史, 津森 宏, 中森悦夫, 河村康雄, 磯崎良寛, 高椋久次郎, 増満州市郎, 稲田 司, 鳴川成清, 山部邦展, 浜田龍夫, 甫立京子, 百目鬼郁男. 乳牛の分娩前後の飼養法に関する研究. 高泌乳牛の繁殖率向上のための脂溶性ビタミンとエネルギーの給与水準に関する研究. 茨城県畜産試験場研究報告, 12: 1-109. 1988.

VanSaun RJ and Sniffen CJ. Comparison of pre- and postpartum performance in dairy cattle having either a single or twin pregnancy. *Journal of Dairy Science*, 78 (Suppl.1): 266. 1995.

Vernon RG, Robertson JP, Clegg RA and Flint DJ. Aspects of adipose-tissue metabolism in foetal lambs. *Biochemical Journal*, 196: 819-824. 1981.

Wilkening RB. Transplacental diffusion in a bicornuate uterus comparison of uterine blood flow and oxygen uptake between horns. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 182: 237-244. 1986.

Wilkening RB, Battaglia FC and Meschia G. The relationship of umbilical glucose uptake to uterine blood flow. *Journal of Developmental Physiology*, 7: 313-319.

1985.

Williams PEV, Broadbent PJ, Macdearmid A and Mollison GS. The energy metabolism of twin-bearing cows. In: Proceedings of 98th Meeting of The British Society of Animal Production. 637. Animal Production. Scarborough, England, UK.

1989.

Wilson S, Macrae JC and Buttery PJ. Glucose production and utilization in non-pregnant, pregnant and lactating ewes. British Journal of Nutrition, 50: 303-316.

1983.

米内美晴, 下司雅也, 坂口 実, 鈴木 修. 双子分娩牛の発情回帰および血中代謝産物濃度に及ぼす飼料給与量の影響. 日本畜産学会報, 65: 968-974. 1994.

米内美晴, 下司雅也, 坂口 実, 鈴木 修. 黒毛和種双胎妊娠牛における妊娠末期の濃厚飼料給与が発情回帰日数と分娩前後のボディコンディションスコアおよび背脂肪厚に及ぼす影響. 日本畜産学会報, 66: 299-302. 1995.

吉田 実. 畜産を中心とする実験計画法. 85. 養賢堂. 東京. 1989.

吉田正三郎, 西村宏一, 常石英作, 西田 朗. 黒毛和種の妊娠中の胎児及び生殖器の発育と養分蓄積に関する研究. 東北農業試験場研究報告, 68: 87-94.

1983.

Zamet CN, Colenbrander VF, Callahan CJ, Chew BP, Erb RE and Moeller NJ.

Variables associated with peripartum traits in dairy cows. 1. Effects of dietary forages and disorders on voluntary intake of feed, body weight and milk yield.

Theriogenology, 11: 229-244. 1979.

Summary

Studies on the feeding of pregnant dairy cows carrying single or twin Japanese black fetuses in late pregnancy

Takehiro Nishida

1. Energy requirement of pregnant dairy cows carrying single or twin Japanese black fetuses in late pregnancy

A study was undertaken to determine the metabolizable energy (ME) requirement for dairy cows carrying single (n=12) or twin (n=6) Japanese black fetuses in late pregnancy. ME intake decreased during the last trimester of twin pregnant cattle. During this time, cows with single gained weight (pregnant weight minus weight of the conceptus), while dams with twins lost weight. At near term ME intake was decreased and heat production was increased by growing gravid uterus. Therefore negative energy balance was observed especially in twin pregnant cattle.

There were no differences in efficiency of energy utilization for fetal growth between single (11.6%) and twin (13.1%). ME requirements for pregnant dairy cows are 265Mcal with single Japanese black fetus and 450Mcal with twin Japanese black fetuses. Additional ME for pregnancy are shown 4.4Mcal/day with single Japanese black fetus and 7.5Mcal/day with twin Japanese black fetuses during last 2 months before parturition.

2. Effects of energy level on plasma hormones and metabolites during the last two months of pregnancy in holstein dairy cows

A study was undertaken to determine the effect of feed amount on the

blood metabolites and hormones in Holstein dairy cows during the last 10 weeks of gestation. Italian ryegrass and concentrate were fed to meet requirement of dam for maintenance only (M, n=9) or dam for maintenance plus fetus (MP, n=17). Proportion of forage in the diet were 90%, 70% and 50%. Blood samples were taken via the coccygeal artery and jugular vein at 30, 32, 34, 36, 38 and 40 weeks of gestation before morning feeding. Least square means of dry matter intake (DMI) during the experiment in M and MP were 8.15 and 9.89kg/day, respectively. The plasma insulin concentration in M was statistically lower than that in MP from 32 weeks of gestation and decreased from 36 to 40 weeks of gestation due to growth of fetus. The plasma glucose concentration was unchanged by different feeding levels and stages of gestation. The plasma free fatty acid (FFA) concentration in M was higher than that in MP during the last 10 weeks of gestation and increased from 36 to 40 weeks of gestation. The increase in plasma FFA was observed in MP at 40 weeks of gestation. The decrease in plasma insulin and the increase in plasma glucagon concentration and the molar insulin : glucagon ratio were found as TDN intake increased after 34 weeks of gestation. The lower plasma insulin and glucagon concentration and increase of fat mobilization were observed when no additional energy for fetal development was fed to pregnant dairy cows during the last 10 weeks of gestation.

3. Effect of litter size and maternal malnutrition to the hormone secretion, blood flow of uterine artery and nutrient uptake by the gravid uterine tissues in late pregnant goats

We observed the maternal plasma hormone and metabolites concentration, blood flow and net nutrient uptake by gravid uterus with different litter size using 10 Saanen goats under maternal malnutrition.

Surgery was done under general anesthesia at 105 days from mating. The ultrasonic flow probe was surgically fitted around the uterine artery. Heparinized catheters were inserted into the uterine vein and carotid artery. Uterine blood flow was measured continuously for 24 hours at 1 minute intervals and blood samples were collected at every 3 hours at 119.0 ± 3.3 (single, n=4), 113.5 ± 3.3 (twin, n=4) and 121.5 ± 4.6 (triplets, n=2) days of pregnancy.

Metabolizable energy intake percentage of requirement (maintenance+pregnancy) was 56.4% (single), 59.4% (twin) and 71.4% (triplet). Retention energy intake in triplet pregnant goats were lowest because the heat production in them were significantly ($P < 0.01$) greater than single or twin pregnant goats. Plasma flow rate in the uterine artery, net glucose uptake by the gravid uterus, plasma glucose and urea nitrogen concentration in triplet pregnant goats was higher than single or twin pregnant goats. There were no clear relationships in plasma free fatty acid concentration among each litter size. Molar ratio of plasma insulin and glucagon tended to be lower in triplet pregnant others.

Our results suggest that triplet pregnant goats could adapt for the deficit in energy to increase glucagon secretion to maintain glucose supply for fetuses. And furthermore, these results showed that the techniques used in the present experiment would contribute to determine accurate nutrient uptake by gravid uterine tissues in ruminants.

4. Passage rate of ingested forage in alimentary tract in holstein dairy cows carrying single or twin fetuses in late pregnancy

A study was undertaken to determine the effect of pregnancy and the number of fetus on rate of passage of forages in Holstein dairy cows carrying single (n=5), twin (n=3) Japanese black fetuses and single (n=10)

Holstein fetus during last trimester of pregnancy. The marked forage by Ytterbium (Yb) solution as the marker of particulate digesta was fed and fecal grab samples were collected for measurement of digesta passage at 210 and 266 days of pregnancy.

Dry matter intake was decreased from 10.07kg/day at 210 days to 9.11kg/day at 266 days of pregnancy in twin pregnant cattle. The average birth weight of calf was 40kg with single and 61kg with twin, so the volume of the gravid uterus of twin might be more huge than of single. The passage of digesta became more rapid as the feeding level was increased and as the pregnancy was advanced in cows carrying single. However, the increasing passage rate of digesta was not observed in twin pregnant cattle as pregnancy progressed. The effect of depression of digestive tract capacity by increasing gravid uterus volume was not observed in twin pregnant cattle. Therefore, it can be considered that decreasing DMI prevent increasing passage rate of digesta.

5. Effects of proportion of forage in the diet on the dry matter intake of holstein dry cows during last 9 weeks of pregnancy

A study was undertaken to determine the effect of ratio of forage to concentrate in the diet on the dry matter intake (DMI) of Holstein dry cows during last 9 weeks of pregnancy. Wafered Italian ryegrass hay and concentrate were fed to meet requirement of dam and fetus. Proportion of forage in the diet were 90% (high forage diet, n=3) and 50% (high concentrate diet, n=4). Total digestible nutrients (TDN) and neutral detergent fiber (NDF) contents of diet were estimated as 56.3% and 51.7% in the high forage diet, 65.3% and 37.1% in the high concentrate diet respectively.

DMI of the high concentrate diet was not changed during experiment.

However, DMI of the high forage diet was gradually decreased from 4 weeks prior to calving ($P < 0.10$, on a week before parturition). The high forage diet contains higher fiber and lower energy and the greater amount of diet was needed to maintain pregnancy of dry cows. From the DMI of this experiment, TDN content of the diet to meet the requirement for pregnant cows could be calculated as 56.3% until 5 week prepartum, 57.4%, 56.6%, 60.1% and 63.1% on 4, 3, 2 and 1 week prepartum, respectively.

Therefore, it can be considered that the decline in DMI of cows in the last 4 weeks of pregnancy may occur in high forage diet. Our data suggest that the pregnant cows during last 4 weeks of gestation should be fed the diet which TDN content is more than 63.1%.